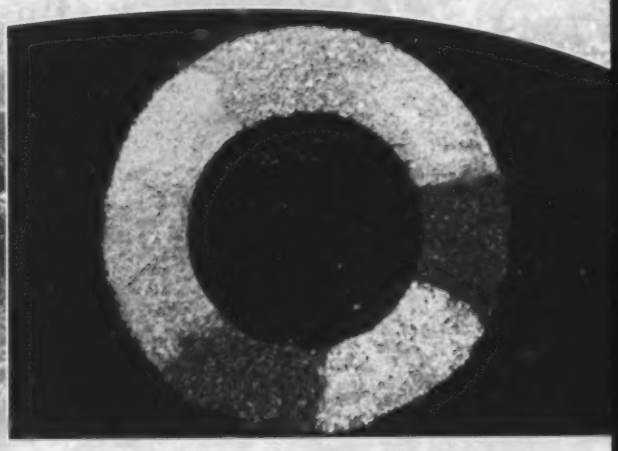
Environnement Canada
Environment Canada

Méthode d'essai biologique : essai de croissance de plantes terrestres indigènes de la région boréale exposées à un sol contaminé

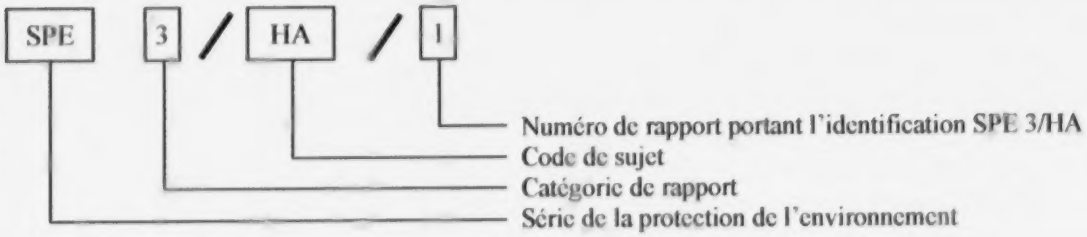
SPE 1/RM/56 – Août 2013
Direction générale de la science et de la technologie
Environnement Canada



Canada

SÉRIE DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT

Exemple de numérotation



Catégories

1 Règlements/Lignes directrices/Codes de pratiques
2 Évaluation des problèmes et options de contrôle
3 Recherche et développement technologique
4 Revues de la documentation
5 Inventaires, examens et enquêtes
6 Évaluations des impacts sociaux, économiques et environnementaux
7 Surveillance
8 Propositions, analyses et énoncés de principes généraux
9 Guides

Sujets

AG Agriculture
AN Technologie anaérobie
AP Pollution atmosphérique
AT Toxicité aquatique
CC Produits chimiques commerciaux
CE Consommateurs et environnement
CI Industries chimiques
FA Activités fédérales
FP Traitement des aliments
HA Déchets dangereux
IC Produits chimiques inorganiques
MA Pollution marine
MM Exploitation minière et traitement des minéraux
NR Régions nordiques et rurales
PF Papier et fibres
PG Production d'électricité
PN Pétrole et gaz naturel
RA Réfrigération et conditionnement d'air
RM Méthodes de référence
SF Traitement des surfaces
SP Déversements de pétrole et de produits chimiques
SRM Méthodes de référence normalisées
TS Transports
TX Textiles
UP Pollution urbaine
WP Protection et préservation du bois

Des sujets et des codes additionnels sont ajoutés au besoin. On peut obtenir une liste des publications de la Série de la protection de l'environnement à l'adresse suivante : Catalogue des publications, Environnement Canada, Ottawa (Ontario) Canada K1A 0H3.

Méthode d'essai biologique : essai de croissance de plantes terrestres indigènes de la région boréale exposées à un sol contaminé

Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes
Direction générale de la science et de la technologie
Environnement Canada
Ottawa (Ontario)

Rapport SPE 1/RM/56
Août 2013

Papier :
ISBN 978-0-660-21003-2
N° de cat. : En49-7/1-56F

PDF :
ISBN 978-0-660-21004-9
N° de cat. : En49-7/1-56F-PDF

Le contenu de cette publication ou de ce produit peut être reproduit en tout ou en partie, et par quelque moyen que ce soit, sous réserve que la reproduction soit effectuée uniquement à des fins personnelles ou publiques mais non commerciales, sans frais ni autre permission, à moins d'avis contraire.

On demande seulement :

- de faire preuve de diligence raisonnable en assurant l'exactitude du matériel reproduit;
- d'indiquer le titre complet du matériel reproduit et l'organisation qui en est l'auteur;
- d'indiquer que la reproduction est une copie d'un document officiel publié par le gouvernement du Canada et que la reproduction n'a pas été faite en association avec le gouvernement du Canada ni avec l'appui de celui-ci.

La reproduction et la distribution à des fins commerciales sont interdites, sauf avec la permission écrite de l'administrateur des droits d'auteur de la Couronne du gouvernement du Canada, Travaux publics et Services gouvernementaux (TPSGC). Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec TPSGC au 613-996-6886 ou à droitdauteur.copyright@tpsgc-pwgsc.gc.ca.

Photos de la page couverture : © M. Moody, Saskatchewan Research Council et H. Lemieux, Environnement Canada

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'Environnement, 2013

Also available in English

Commentaires

Prière d'adresser vos commentaires et observations sur la teneur du présent rapport à :

Richard Scroggins, chef
Section de l'évaluation biologique et normalisation
Direction générale de la science
et de la technologie
Environnement Canada
335, chemin River Sud
Ottawa (ON)
K1A 0H3

Lisa Taylor, gestionnaire
Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes
Direction générale de la science
et de la technologie
Environnement Canada
335, chemin River Sud
Ottawa (ON)
K1A 0H3

This publication is also available in English from:

Publications Catalogue
Environment Canada
Ottawa, Ontario
K1A 0H3

Avis de révision

Le présent document a été révisé par le personnel de la Direction générale pour l'avancement des technologies environnementales d'Environnement Canada, et sa publication a été autorisée. La mention d'appellations commerciales ou de produits offerts sur le marché ne constitue pas une approbation, par Environnement Canada, de l'emploi de ces produits. D'autres produits de valeur comparable peuvent être utilisés.

Résumé

Le présent document renferme des indications précises et décrit en détail les conditions et modes opératoires applicables à la préparation et à l'exécution d'un essai biologique visant à mesurer la toxicité d'un sol pour des plantes terrestres de la région boréale du Canada. Les espèces pouvant être utilisées sont les suivantes : peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*), verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*), bouleau à papier (*Betula papyrifera*), pin gris (*Pinus banksiana*), épinette blanche (*Picea glauca*), épinette noire (*Picea mariana*). L'essai, d'une durée de 28, 35 ou 42 jours, permet de mesurer les effets sur la croissance des plantes (d'après la longueur et le poids sec des pousses et des racines). Il s'agit d'un essai en conditions statiques faisant appel à un ou des échantillons de sol contaminé ou susceptible d'être contaminé, ou encore à une ou des concentrations d'une substance chimique dont on enrichit un sol témoin négatif (ou autre). Les échantillons de sol sont prélevés par horizon. En laboratoire, au moment du transfert des échantillons dans les récipients d'essai, on reconstitue ces horizons dans les mêmes proportions (profondeur) que celles observées sur le terrain. On ajoute de l'eau dans les récipients d'essai afin d'hydrater le sol au besoin pendant la durée de l'essai.

L'essai se déroule à une température moyenne de 24 ± 3 °C ou à des températures cycliques de 24 ± 3 °C le jour et de 15 ± 3 °C la nuit. Chaque récipient d'essai (de 1 L, en polypropylène) renferme un volume mesuré (poids humide) de sol d'essai équivalant à ~500 mL. Chaque récipient de répétition compte 5 ou 10 graines (selon l'espèce). Dans le cas d'un essai à concentration unique, on utilise ≥5 récipients de répétition par traitement; s'il s'agit d'un essai à concentrations multiples, on en utilise entre 3 et 6. Les options présentées pour le plan d'expérience faisant appel à un essai à concentrations multiples incluent un nombre (≥4) égal ou inégal de répétitions par traitement (soit 6 par traitement pour le sol témoin négatif ou autre sol témoin; 4 pour chacune des 4 à 6 concentrations expérimentales les plus faibles; 3 pour chacune des 5 concentrations expérimentales les plus élevées). Après une exposition de 28, 35 ou 42 jours (selon l'espèce employée), on détermine tant la longueur que le poids sec des pousses et des racines de chaque plante dans chacune des répétitions, puis on compare les moyennes obtenues.

Le présent document décrit les conditions et modes opératoires généraux ou universels applicables à la préparation et à l'exécution de l'essai. Il renferme aussi une description des conditions et modes opératoires supplémentaires propres à l'usage prévu des résultats de chaque essai. La méthode d'essai biologique présentée ici convient à la mesure et à l'évaluation de la toxicité d'échantillons d'un sol ou d'une matière particulaire semblable prélevés sur le terrain, ou encore d'échantillons d'un sol témoin négatif (ou autre) enrichi en laboratoire avec une ou des substances chimiques d'essai. La méthode contient aussi des instructions et des exigences relatives aux éléments suivants : installations d'essai; prélèvement, manipulation et entreposage des échantillons; source, entreposage, stratification et manipulation des graines; préparation du sol ou des mélanges de sol enrichi; mise en route de l'essai; conditions propres à l'essai; observations et mesures pertinentes; paramètres et méthodes de calcul; utilisation d'un toxique de référence.

Abstract

This document provides detailed procedures, conditions and guidance for preparing for and conducting a biological test for measuring soil toxicity using terrestrial plants of the Canadian boreal region. Seven species options are provided and include trembling aspen (*Populus tremuloides*), bluejoint reedgrass (*Calamagrostis canadensis*), Canada goldenrod (*Solidago canadensis*), paper birch (*Betula papyrifera*), jack pine (*Pinus banksiana*), white spruce (*Picea glauca*), or black spruce (*Picea mariana*). The test is a 28-, 35-, or 42-day test for effects on plant growth (measured as shoot and root length and shoot and root dry mass). The method is conducted as a static (i.e., no renewal) test, using one or more samples of contaminated or potentially contaminated soil or one or more concentrations of chemical(s) or chemical product(s) spiked in negative control (or other) soil. Soil samples are collected as distinct horizons and re-assembled in test vessels in proportions correlated to the depths of each horizon, as collected in the field. Water is added to the test vessels to hydrate soils as needed, for the duration of the test.

The test is conducted at a mean temperature of 24 ± 3°C or with cyclical temperatures of 24 ± 3°C during the day and 15 ± 3°C at night. Test vessels (1-L polypropylene) contain a measured wet-weight equivalent to a volume of ~500 mL of test soil. Five or 10 seeds (i.e., number of seeds per test vessel is species-specific) are placed into each replicate test vessel. This test uses ≥ 5 replicated test vessels/treatment for a single-concentration test, and 3 to 6 replicated test vessels/treatment for a multi-concentration test. The options for test design in a multi-concentration test include an equal number of replicates per treatment (i.e., ≥ 4) or unequal replicates per treatment (i.e., 6 per treatment for each negative and other control; 4 replicates for each of the lowest 4 to 6 test concentrations; and 3 replicates for each of the highest 5 test concentrations). Following a 28-, 35-, or 42-day exposure (i.e., test duration is species-specific), the shoot and root lengths and the shoot and root dry weights of individual plants in each replicate are determined, and the treatment means compared.

General or universal conditions and procedures are outlined for test preparation and performance. Additional conditions and procedures are stipulated that are specific to the intended use of each test. The biological test method described herein is suitable for measuring and assessing the toxicity of samples of field-collected soil or similar particulate material; or of negative control (or other) soil spiked (mixed) in the laboratory with test chemical(s) or chemical product(s). Instructions and requirements are included on test facilities, sample collection, handling and storing samples, seed source and storage, seed stratification, and handling, preparing soil or spiked-soil mixtures and initiating tests, specific test conditions, appropriate observations and measurements, endpoints and methods of calculation, and the use of a reference toxicant.

Avant-propos

Le présent document fait partie d'une série de **méthodes recommandées** pour mesurer et évaluer les effets toxiques de l'exposition d'organismes terrestres ou aquatiques à des échantillons de substances ou matières toxiques ou susceptibles d'être toxiques, dans des conditions de laboratoire contrôlées et définies. Environnement Canada a évalué ces méthodes et en préconise l'emploi :

- dans ses laboratoires d'écotoxicologie;
- pour les essais qu'il donne en sous-traitance ou que demandent des organismes ou des entreprises de l'extérieur;
- en l'absence d'instructions plus précises, comme dans les règlements;
- en vue de l'élaboration d'instructions très explicites, comme celles qui pourraient être exigées dans un protocole réglementaire ou une méthode de référence normalisée.

Les différents types d'essais inclus dans cette série ont été choisis parce qu'ils répondent aux besoins des programmes de protection et de gestion de l'environnement que mène Environnement Canada. Les documents de la série ont pour objet d'orienter les utilisateurs et de faciliter la mise en œuvre de modes opératoires cohérents, pertinents et intégrés en vue de recueillir des données sur la toxicité, pour des organismes terrestres ou aquatiques, d'échantillons de substances ou matières destinées à être dispersées dans l'environnement ou présentes dans l'environnement. Selon la ou les méthodes d'essai biologique choisies et le milieu naturel visé, les substances ou matières dont la toxicité doit être mesurée pourraient comprendre des échantillons de substances chimiques, de sol ou de matière particulaire semblable, de sédiment ou de matière particulaire semblable, d'effluent, d'élutriat, de lixiviat ou d'eau réceptrice. On trouvera à l'annexe A du présent document la liste des méthodes d'essai biologique et des documents d'orientation publiés jusqu'à maintenant par Environnement Canada dans cette série.

Les termes définis dans la section « Terminologie » sont en italique lorsqu'ils sont mentionnés pour la première fois dans le texte, conformément à la définition qui en est donnée ici. L'italique sert également à mettre en évidence ces termes et certains autres.

Table des matières

Résumé v
Abstract vi
Avant-propos vii
Liste des sigles, abréviations, acronymes, symboles et formules chimiques xiii
Terminologie xiv
Remerciements xxviii

Section 1
Introduction 1
1.1 Contexte 1
1.2 Choix des espèces expérimentales 4
1.2.1 Peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides* Michx.) 5
1.2.2 Calamagrostide du Canada [*Calamagrostis canadensis* (Michx.) P. Beauv.] 7
1.2.3 Verge d'or du Canada (*Solidago canadensis* L.) 8
1.2.4 Bouleau à papier (*Betula papyrifera* Marsh.) 9
1.2.5 Pin gris (*Pinus banksiana* Lamb.) 11
1.2.6 Épinette blanche [*Picea glauca* (Moench) Voss] 12
1.2.7 Épinette noire [*Picea mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenb.] 14
1.3 Historique de l'utilisation de plantes de la région boréale dans les essais toxicologiques 15

Section 2
Organismes expérimentaux 17
2.1 Espèces 17
2.2 Source des graines 18
2.3 Tri et stratification des graines 20
2.4 Entreposage des graines 21
2.5 État des graines 21

Section 3
Système d'essai 23
3.1 Installations et appareils 23
3.2 Essais initiaux et essais définitifs 24
3.2.1 Essais initiaux 24
3.2.2 Essais définitifs 24
3.3 Éclairage 25
3.4 Sol témoin négatif 25
3.4.1 Sol naturel 26
3.4.2 Sol artificiel 27
3.5 Sol témoin positif 27
3.6 Sol de référence 28
3.7 Sol d'essai 29

Section 4

Modes opératoires universels **30**

4.1 Préparation des sols d'essai 31
4.1.1 Essai préliminaire 36
4.2 Mise en route de l'essai 36
4.3 Conditions d'essai 37
4.4 Critères de validité des essais 37
4.5 Hydratation des sols d'essai 38
4.6 Observations et mesures 38
4.7 Fin de l'essai 41
4.8 Paramètres et calculs 45
4.8.1 Taux de levée 46
4.8.2 CI_p 46
4.8.2.1 Analyse de régression 48
4.8.2.2 Interpolation linéaire à l'aide du programme ICPIN 51
4.9 Essais avec un toxique de référence 52

Section 5

Modes opératoires particuliers pour la mesure de la toxicité d'un sol ou d'une matière particulaire semblable prélevé sur le terrain **58**

5.1 Prélèvements d'échantillons 58
5.2 Étiquetage, transport, entreposage et analyse des échantillons 62
5.3 Préparation des échantillons en vue des essais 65
5.4 Éléments particuliers à prendre en considération dans la collecte, la manipulation et la préparation de sol de diverses écozones du Canada 70
5.5 Observations et mesures 70
5.6 Paramètres et calculs 71
5.6.1 Variantes du plan d'étude et des analyses 72
5.6.2 Analyse de puissance 74

Section 6

Modes opératoires particuliers pour la mesure de la toxicité d'un sol enrichi avec une substance chimique **76**

6.1 Propriétés, étiquetage et entreposage des échantillons 76
6.2 Préparation des mélanges d'essai 77
6.3 Observations et mesures 80
6.4 Paramètres et calculs 80

Section 7

Rapports à produire **82**

7.1 Exigences minimales pour le rapport d'essai 82
7.1.1 Substance ou matière d'essai 82
7.1.2 Organismes expérimentaux 83
7.1.3 Installations 83
7.1.4 Méthode d'essai 83
7.1.5 Conditions et modes opératoires 83
7.1.6 Résultats 83

7.2 Exigences supplémentaires 84
7.2.1 Substance ou matière d'essai 84
7.2.2 Organismes expérimentaux 84
7.2.3 Installations d'essai et appareillage 84
7.2.4 Sol témoin négatif ou sol de référence 85
7.2.5 Méthode d'essai 85
7.2.6 Conditions et modes opératoires 85
7.2.7 Résultats 85

Références 87

Annexe A
Méthodes d'essai biologique et documents d'orientation publiés par l'Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes d'Environnement Canada 99

Annexe B
Administration centrale et bureaux régionaux du Service de la protection de l'environnement d'Environnement Canada 102

Annexe C
Membres du Groupe intergouvernemental sur les essais écotoxicologiques 103

Annexe D
Membres du comité consultatif scientifique 106

Annexe E
Préparation des graines de bouleau à papier (*Betula papyrifera*) aux fins des essais toxicologiques 108

Annexe F
Sol artificiel et sols témoins négatifs naturels utilisés pour la mise au point de la méthode et l'établissement des critères de validité des essais 111

Annexe G
Séries logarithmiques de concentrations convenant aux essais toxicologiques 117

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques des espèces végétales choisies 6

Tableau 2. Caractéristiques des graines, stratification et fournisseurs 18

Tableau 3. Liste de contrôle des conditions et modes opératoires recommandés et exigés pour les essais toxicologiques définitifs avec des plantes de la région boréale 33

Tableau 4. Liste de contrôle des conditions et modes opératoires recommandés et exigés pour les essais toxicologiques de référence avec des plantes de la région boréale 54

Liste des figures

Figure 1. Points à considérer dans la préparation et l'exécution d'essais de toxicité de sols avec des plantes de la région boréale et divers types de substances ou matières d'essai 3

Figure 2. Récipients d'essai montrant la superposition des horizons pédologiques : à gauche – podzol prélevé en Ontario (horizons Ah, Ae et B); à droite – brunisol prélevé en Saskatchewan (horizons FH et AeB) 32

Figure 3. Début de la levée (4 mm) d'une plantule de peuplier faux-tremble (papier millimétré en arrière-fond) 39

Figure 4. Début de la levée d'une plantule d'épinette noire (papier millimétré en arrière-fond) 39

Figure 5. Peuplier faux-tremble – point de transition entre la pousse et la racine 42

Figure 6. Calamagrostide du Canada – point de transition entre la pousse et la racine 42

Figure 7. Verge d'or du Canada – point de transition entre la pousse et la racine 42

Figure 8. Bouleau à papier – point de transition entre la pousse et la racine et changement de couleur chez des plantules cultivées dans un sol artificiel (A) et dans un podzol provenant du Nouveau-Brunswick (B) 43

Figure 9. Pin gris – point de transition entre la racine et la pousse d'après la couleur 43

Figure 10. Épinette blanche – point de transition entre la pousse et la racine d'après l'alignement de la tige 43

Figure 11. Épinette noire – point de transition entre la racine et la pousse d'après la texture 43

Figure 12. Logigramme du processus général d'analyse statistique et de sélection du modèle le plus approprié pour des données toxicologiques quantitatives (adaptation du logigramme présenté dans Stephenson et coll., 2000) 50

Liste des sigles, abréviations, acronymes, symboles et formules chimiques

ANOVA	analyse de la variance
AQ/CQ	assurance de la qualité et contrôle de la qualité
$CaCl_2$	chlorure de calcium
$CaCO_3$	carbonate de calcium
CCME	Conseil canadien des ministres de l'environnement
CEC	capacité d'échange cationique
CI_p	concentration inhibitrice correspondant à un pourcentage d'effet (précisé)
CLHP	chromatographie liquide à haute performance
cm	centimètre
CMEO	concentration minimale avec effet observé
COT	carbone organique total
CRE	capacité de rétention d'eau
CSEO	concentration sans effet observé
CV	coefficient de variation
°C	degré Celsius
EC	Environnement Canada
ET	écart type
g	gramme
h	heure
H_3BO_3	acide borique
HAP	hydrocarbures aromatiques polycycliques
ISO	Organisation internationale de normalisation
KCl	chlorure de potassium
kg	kilogramme
L	litre
lm	lumen
LTS	Laboratoire de toxicologie des sols
m	mètre
M	mole (concentration)
MC	marque de commerce
mg	milligramme
min	minute
mL	millilitre
mm	millimètre
mS	millisiemens
n	nombre
nm	nanomètre
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OQD	objectifs de qualité des données
P	probabilité
PIHF	plasma induit par haute fréquence
®	marque de commerce déposée
s	seconde
sp.	espèce
spp.	espèces
SRC	Saskatchewan Research Council
USEPA	United States Environmental Protection Agency
µg	microgramme
µm	micromètre
µmho	micromho
µmol	micromole
<	moins de
≤	moins de ou égal à
>	plus de
≥	plus de ou égal à
−	moins
+	plus
±	plus ou moins
×	multiplié par
·	multiplié par
÷	divisé par
/	par; peut aussi signifier « ou » (p. ex., pousse/racine)
=	égale
≅	approximativement égal à
~	environ
%	pour cent

Terminologie

Nota : Toutes les définitions ci-dessous s'inscrivent dans le contexte des procédures décrites dans le présent document; elles pourraient ne pas être adaptées à d'autres contextes.

Verbes auxiliaires

L'auxiliaire *doit (doivent)* exprime l'obligation absolue.

L'auxiliaire *devrait (devraient)* et le conditionnel d'obligation (*il faudrait*, etc.) expriment une recommandation ou la nécessité de respecter la condition dans la mesure du possible.

L'auxiliaire *peut (peuvent)* exprime l'autorisation ou la capacité d'accomplir une action.

L'auxiliaire *pourrait (pourraient)* indique la possibilité ou l'éventualité.

Termes techniques

Acuminé – Qui se termine graduellement en pointe.

Allélopathique – Qualifie une espèce sécrétant des substances chimiques qui inhibent la croissance d'autres espèces.

Alluvial – Se dit d'un type de sol azonal formé sur la plaine inondable d'une vallée fluviale ou à l'embouchure d'un cours d'eau (cône alluvial ou delta). Dans les zones inondables, de nouveaux matériaux charriés par l'eau se déposent en couches successives à la surface du sol.

Angiosperme – Terme utilisé dans la classification des plantes pour désigner celles qui fleurissent et dont les ovules (jeunes graines) sont enfermés dans un ovaire. Après fécondation, l'ovaire devient un fruit à graines. L'embranchement Magnoliophyta (ou Anthophyta), qui englobe toutes les angiospermes, constitue le groupe le plus important et le plus diversifié du règne végétal. Les angiospermes comprennent la classe Magnoliopsida (*dicotylédones*) et la classe Liliopsida (*monocotylédones*).

Assainissement – Gestion d'un *site* contaminé dans le but de prévenir, de réduire au minimum ou d'atténuer ses effets sur la santé humaine ou l'environnement. L'assainissement d'un site peut comprendre à la fois des actions physiques directes (p. ex., élimination, destruction ou confinement des substances toxiques) ou des moyens administratifs (p. ex., zonage ou décrets).

Assurance de la qualité – Programme permettant à un laboratoire de veiller à ce que les résultats de ses travaux scientifiques et techniques soient précis et exacts. Un tel programme englobe le choix des modes opératoires pertinents, la collecte d'échantillons, l'établissement de limites, l'évaluation des données, le *contrôle de la qualité* ainsi que les qualifications et la formation du personnel.

Bidenté – Se dit de feuilles qui présentent une double dentelure (c.-à-d. des petites dents alternant avec des plus grandes).

Biomasse – Poids total (masse) d'un groupe de végétaux ou d'animaux.

Brout – Partie des plantes ligneuses d'un peuplement végétal que consomment des animaux sauvages (p. ex., feuilles et rameaux des arbrisseaux, arbres et vignes ligneuses). Synonyme : viandis.

Chaton – Grappe cylindrique de fleurs unisexuées apétales. On trouve des chatons sur les saules, les bouleaux et les chênes, notamment.

Chlorose – État provoqué par une déficience en chlorophylle des parties vertes d'une plante, les feuilles de la plante touchée devenant vert pâle ou jaunes. Cet état peut avoir diverses causes : maladie, exposition à des substances toxiques, carence en nutriments, sénescence.

Coloration anormale – Décoloration de parties de la plante (racines, tiges, feuilles, autres tissus) causée par la substance d'essai.

Conductivité – Expression numérique de la capacité d'une solution aqueuse de conduire l'électricité. Cette capacité dépend des concentrations des ions dans une solution, de leur valence et de leur mobilité, de même que de la température de la solution. La conductivité est mesurée à 25 °C et exprimée en micromhos par centimètre (µmhos/cm) ou en millisiemens par mètre (mS/m); 1 mS/m = 10 µmhos/cm.

Conformité – Respect des règlements ou des exigences gouvernementales en matière de permis.

Conifère – Arbre portant des cônes, de la famille des Pinacées, habituellement à feuillage persistant. (V. aussi *feuillu*.)

Contrôle de la qualité – Mesures précises prévues dans le programme d'*assurance de la qualité*, notamment la normalisation, l'étalonnage, la répétition, les échantillons témoins et les estimations statistiques des limites des données.

Cotylédon – Première feuille de l'embryon en développement d'une graine; il y en a une seule chez les monocotylédones et deux chez les dicotylédones. Chez de nombreuses espèces de dicotylédones, comme le haricot, les cotylédons sortent du sol et forment les premières feuilles.

Couches LFH – Regroupement des horizons pédologiques L, F et H. Ces couches organiques, qui reposent sur un sol minéral, résultent habituellement de l'accumulation de feuilles, de brindilles et de matériaux ligneux. La plupart du temps, on peut identifier les composants de l'horizon L (litière feuillue), qui forme la première couche. La couche suivante, l'horizon F, se distingue de la première du fait que ses composants sont difficiles à identifier parce qu'ils sont en décomposition. La dernière, l'horizon H, est constituée de matériaux organiques décomposés, impossibles à identifier. On peut y trouver des particules minérales provenant du sol minéral sous-jacent.

Couvert forestier – Ensemble plus ou moins continu de branches et de feuillage formé par l'ensemble des cimes des arbres d'un peuplement (RNCan, sans date).

Croissance – Accroissement de la taille ou du poids d'un organisme par suite de la formation de nouveaux tissus. Dans la présente méthode d'essai, on entend par croissance un allongement des pousses et des racines, de même qu'une augmentation de leurs poids sec et humide.

Défoliation – Phénomène par lequel une plante perd prématurément ses feuilles. La ou les causes de cette perte peuvent être tout aussi bien internes qu'externes.

Degré-jour de croissance – Unité de mesure de la quantité de chaleur permettant à une plante de croître. On calcule pour chaque jour de *croissance* le nombre de degrés d'écart entre la température moyenne quotidienne et une température de base (habituellement 5 °C). La somme des valeurs quotidiennes additionnées à mesure que la saison de croissance progresse donne le nombre cumulatif de degrés-jour de croissance. Le plus souvent, la croissance des plantes est en corrélation étroite avec l'accumulation de degrés-jour de croissance.

Dessiccation – Assèchement ou processus d'assèchement. Ce terme peut s'appliquer aux plantes, à des parties de plantes ou à des sols.

Dicotylédone – Dans la classification des plantes, terme désignant les espèces ayant deux *cotylédons*.

Dioïque – Se dit d'une plante dont les fleurs mâles et femelles croissent sur deux pieds différents. (V. aussi *monoïque*.)

Ensemencement naturel – Quantité totale de graines tombant des plantes ou d'une espèce en particulier d'une association végétale.

Épicotyle – Portion de l'embryon ou de la plantule renfermant la pousse. D'un point de vue anatomique, l'épicotyle est délimité par la zone de transition tissulaire qui le sépare de l'*hypocotyle*.

Épigé – Qualifie un mode de *germination* dans lequel l'*hypocotyle* est actif et soulève les *cotylédons* hors du sol pendant la croissance. La germination commence avec l'*imbibition* d'eau et se poursuit avec le développement de la *radicule* de la graine, qui formera la racine primaire et les racines secondaires; l'hypocotyle s'allonge ensuite de telle manière que l'arc qu'il forme sort du sol. Chez les dicotylédones à levée épigée (soit 90 % des dicotylédones), la photosynthèse commence dès que les cotylédons apparaissent, de sorte que la surface foliaire peut croître rapidement. (V. aussi *hypogé*.)

Espèce de transition – Espèce faisant partie des premières associations végétales à se développer sur un site perturbé.

Évaluation du risque – Voir *évaluation du risque écologique*.

Évaluation du risque écologique – Processus comportant l'analyse du risque et l'évaluation des effets indésirables des milieux naturels contaminés (p. ex., air, sol, eau) sur les organismes non humains, en tenant compte de la nature et de l'étendue de ces effets, de même que de la probabilité de manifestation de ceux-ci (ISO, 2005).

Fanaison – Amollissement d'une plante attribuable au manque d'eau. La fanaison est souvent due à des racines endommagées.

Feuillu – Arbre qui perd ses feuilles à la fin de la saison de croissance. Synonyme : à feuilles caduques. (V. aussi *conifère*.)

Flétrissement – Phénomène observé lorsque cesse la turgescence des tissus d'une plante. On constate alors un amollissement de la plante.

Germination – Processus par lequel l'embryon contenu dans la *graine* de la plante recommence à croître après une période de dormance, la *plantule* sortant alors de la graine. (V. aussi *épigé* et *hypogé*.)

Graine – Ovule fécondé et parvenu à maturité d'une plante, comprenant l'embryon de la plante, des quantités variables de matière nutritive emmagasinée et une enveloppe extérieure protectrice.

Graminoïde – Plante apparentée ou ressemblant à une graminée. On considère que les carex sont des graminoïdes. (V. aussi *herbe non graminéenne*.)

Gymnospermes – Sous-embranchement des spermatophytes (plantes à graines) incluant les conifères et leurs congénères. Les gymnospermes se distinguent des *angiospermes* par leurs ovules à nu que portent les mégasporophylles (écailles) du cône. Chez les angiospermes, les graines sont enfermées dans un ovaire. (V. aussi *angiosperme*.)

Herbe – Plante dépourvue de tissu ligneux et dont les parties aériennes meurent à la fin de la saison de croissance. Les plantes *herbacées* peuvent être soit graminoïdes, soit non graminéennes. (V. aussi *graminoïde* et *herbe non graminéenne*.)

Herbe non graminéenne – Plante herbacée non graminoïde, qui ne ressemble pas à une graminée et qui porte habituellement des feuilles larges. (V. aussi *graminoïde*.)

Hormèse – Dans un essai toxicologique, stimulation observée de la performance d'organismes exposés à de faibles concentrations, par comparaison avec les organismes témoins.

Hypocotyle – Portion d'un embryon ou d'une plantule renfermant la *radicule* ou la racine. D'un point de vue anatomique, l'hypocotyle est délimité par la zone de transition tissulaire qui le sépare de l'*épicotyle*.

Hypogé – Qualifie un mode de *germination* dans lequel l'*hypocotyle* est inactif et le scutellum (*cotylédon*) reste dans le sol. La *radicule* sort en premier pour former la racine primaire; vient ensuite le *coléoptile*. La *levée* dépend dans une large mesure de l'allongement du coléoptile et du premier entrenœud. Lorsque le coléoptile atteint la surface du sol, la lumière empêche toute croissance subséquente et les feuilles vraies sortent de la gaine creuse. Toutes les graminées (p. ex., l'orge) se caractérisent par une germination hypogée.

Imbibition – Période initiale de germination pendant laquelle une graine sèche s'imbibe d'eau rapidement.

Inflorescence – Partie de la pousse d'une plante à graines où les fleurs se forment.

Lacustre – Relatif aux lacs. Les sols lacustres se forment à partir des sédiments qui se sont déposés sur le fond d'un lac et qui ont été exposés par la suite.

Lancéolé – « En forme de fer de lance ». Une feuille lancéolée est arrondie à la base et se termine en pointe.

Levée – Étape qui suit la *germination* d'une plante et qui se traduit par l'apparition de l'*épicotyle* à la surface du sol au début de la *croissance* de la plantule. Dans la présente méthode d'essai, on considère qu'une plante est levée si sa croissance végétative atteint ≥3 mm (de la portion de la tige hors du sol jusqu'à l'extrémité de la feuille la plus longue), que ce soit à la verticale (perpendiculairement à la surface du sol) ou à l'horizontale (parallèlement à la surface du sol).

Ligule – Membrane située sur le côté d'une feuille de graminée, face à la tige, au point de réunion de la gaine foliaire et du limbe.

Lux – Unité d'éclairement mesurant l'intensité lumineuse par mètre carré. 1 lux = 0,092 9 pied-bougie et 1 pied-bougie = 10,76 lux. Pour convertir des lux en flux quantique [µmol/($m^2 \cdot s$)], il faut connaître la qualité spectrale de la source lumineuse. Les conditions de luminosité ou l'irradiance sont exprimées sous forme de flux quantique (débit de fluence photonique) dans la gamme de longueurs d'onde photosynthétiquement efficaces de ~400-700 nm. Le lien entre flux quantique et lux (ou pied-bougie) varie énormément en fonction de la source lumineuse, du photomètre utilisé, de la disposition géométrique et des réflexions possibles (v. ASTM, 2008). Le facteur approximatif de conversion entre flux quantique et lux pour un éclairage fluorescent en spectre continu (p. ex., VitaLux® de Duro-Test®) est le suivant : 1 lux ≅ 0,016 µmol/($m^2 \cdot s$) (Deitzer, 1994; Sager et McFarlane, 1997).

Malformation – Anomalie structurale peu fréquente due à un développement anormal.

Marbrure – Présence de taches ou de stries de différentes couleurs. Ce terme désigne également la décoloration du pourtour des feuilles.

Méthode de référence – Protocole conçu spécifiquement pour l'exécution d'un essai de toxicité, c'est-à-dire une méthode d'essai biologique comportant un ensemble explicite de conditions et modes opératoires exposé en détail dans un document écrit et dont ont convenu formellement les parties en cause. Contrairement à d'autres méthodes d'essai biologique polyvalentes (génériques) publiées par Environnement Canada, les méthodes de référence sont souvent réservées aux essais associés à des règlements particuliers.

Monocotylédone – Dans la classification des plantes, terme désignant les espèces ayant un seul *cotylédon*.

Monoïque – Se dit d'une plante dont les fleurs mâles et femelles sont réunies sur le même pied. (V. aussi *dioïque*.)

Nécrose – Mort de tout tissu.

Oreillette – Excroissance en forme d'oreille enserrant la tige au point de réunion de la gaine foliaire et du limbe. Synonyme : auricule.

Panicule – Grappe ramifiée de fleurs dont les branches sont disposées en *racèmes*.

Pérenne – Se dit d'une plante qui, en milieu naturel, survit pendant plus d'une saison de croissance.

pH – Logarithme négatif de l'activité des ions hydrogène exprimée en équivalents-grammes par litre. La valeur du pH indique le degré ou l'intensité des réactions tant acides qu'alcalines sur une échelle de 0 à 14, le nombre 7 représentant la neutralité, les nombres inférieurs à 7, des réactions de plus en plus acides, et les nombres supérieurs à 7, des réactions de plus en plus alcalines.

Photopériode – Durée de l'éclairement sur 24 h.

Phytomasse – Poids total (masse) hors du sol et/ou dans le sol d'un groupe de végétaux.

Plante de saison chaude (C_4) – Plante dont la croissance est optimale à des températures chaudes. Les plantes de ce type sont parfois appelées « plantes C_4 » du fait qu'elles utilisent le mécanisme de photosynthèse C_4, où le premier composé organique stable produit pendant la fixation du dioxyde de carbone de l'atmosphère dans les cellules de la feuille renferme quatre atomes de carbone. (V. aussi *plante de saison fraîche*.)

Plante de saison fraîche (C_3) – Plante dont la croissance est favorisée par des températures fraîches. Les plantes de ce type sont parfois appelées « plantes C_3 » du fait qu'elles utilisent le mécanisme de photosynthèse C_3, où le premier composé organique stable produit pendant la fixation du dioxyde de carbone de l'atmosphère dans les cellules de la feuille renferme trois atomes de carbone. Les plantes de saison fraîche et celles de *saison chaude* (C_4) croissent ensemble, mais les premières apparaissent plus tôt au printemps que les deuxièmes. La plupart des plantes des régions tempérées sont des plantes C_3.

Plantule – Jeune plante qui s'est développée à partir d'une graine.

Pollution – Ajout d'une substance, d'une matière ou d'une forme d'énergie (comme la chaleur) à un composant de l'environnement, en une quantité suffisante pour provoquer un changement discernable et nuisible chez certains organismes ou dans une utilisation anthropique de l'environnement. Il existe des définitions officielles (nationales et internationales) de la pollution, qu'il convient de respecter selon le contexte.

Potentiel d'oxydoréduction – Mesure (exprimée en volts) d'affinité d'une substance pour les électrons par rapport à l'hydrogène. Synonyme : potentiel redox.

Pousse – Portion habituellement aérienne d'une plante, comme la tige et les feuilles.

Prétraitement – Traitement d'un échantillon ou d'un sous-échantillon de sol avant d'y exposer les organismes expérimentaux.

Prétraitement des graines – Traitement des graines au fongicide, par exemple, avant l'*imbibition* d'eau.

Protocole – Document exposant avec précision l'ensemble des marches à suivre pendant un essai ou une expérience et dont ont convenu formellement les parties en cause.

Racème – Grappe non ramifiée de fleurs consistant en un axe central où des fleurs individuelles poussent par intervalles sur de courtes tiges.

Racine – Partie habituellement souterraine d'une plante, qui sert de support, absorbe les sels minéraux du sol environnant et, parfois, emmagasine des réserves nutritives. Il existe deux types principaux de systèmes racinaires : le système à racine pivotante, comportant une racine primaire plus importante que les autres ramifications, et le système à racines fibreuses, composé de nombreuses racines fines qui se ramifient en une multitude de racines encore plus fines. (V. aussi *pousse*.)

Radicule – Extrémité de l'embryon d'une plante, qui deviendra la première racine.

Rhizomatoïde – Voir *rhizome*.

Rhizome –Tige souterraine charnue, rampante et horizontale comportant des nœuds d'où partent souvent des racines et des pousses. Certaines plantes se reproduisent de manière végétative à partir de leur rhizome.

Risque – Probabilité ou vraisemblance de la manifestation d'un effet nocif.

Sérotineux – Se dit des cônes de certaines plantes qui, par suite d'une adaptation écologique, libèrent leurs graines lentement ou en réaction à un élément déclencheur, notamment un incendie de forêt.

Stratification – Traitement au cours duquel les graines s'imbibent de l'eau présente dans le milieu environnant pendant leur entreposage au froid. En plus d'accélérer la germination et d'en améliorer le taux, la stratification peut donner lieu à une meilleure synchronisation de la germination chez certaines espèces.

Surveillance – Vérification périodique (p. ex., quotidienne, hebdomadaire, mensuelle, trimestrielle) de la qualité, ou collecte et communication d'information. Dans le présent rapport, le terme désigne soit la vérification périodique et la mesure de variables biologiques ou de variables relatives à la qualité du sol, soit le prélèvement d'échantillons de sol aux fins de la mesure de leur toxicité.

Termes relatifs aux substances ou matières d'essai

Batterie d'essais – Combinaison de plusieurs essais toxicologiques, normalement avec différentes espèces d'organismes (p. ex., des vers de terre, des plantes ou des collemboles, ou encore plusieurs espèces de plantes), comportant différents paramètres biologiques (p. ex., effet létal et divers effets sublétaux) et différentes durées d'exposition (p. ex., aiguë et chronique).

Capacité d'échange cationique – Quantité totale de cations échangeables que le sol peut adsorber. Parfois appelée capacité totale d'échange, pouvoir d'échange de cations et capacité d'adsorption de cations. Elle s'exprime en milliéquivalents par 100 g de sol (ou de toute autre solide adsorbant, comme l'argile) (AAC, 1998).

Capacité de rétention d'eau – Quantité maximale d'eau qu'un sol peut retenir après saturation complète. En règle générale, elle est déterminée par une méthode gravimétrique et exprimée sous forme de pourcentage d'eau (en poids; eau-sol sec) que retient un échantillon de sol saturé avec de l'eau.

Carbone organique total – Quantité de carbone organique présente dans le sol, à l'exclusion du carbone provenant des résidus de plantes et d'animaux non décomposés, déterminée au moyen d'une analyse par combustion sèche (ISO, 2012b). (V. aussi *matière organique*.)

Carotte – Échantillon de sol prélevé au moyen d'un carottier.

Concentration – Rapport entre le poids de la substance ou matière d'essai et le poids du sol, souvent exprimé en milligrammes de substance ou matière d'essai par kilogramme de sol sec (mg/kg). La concentration peut aussi être exprimée sous forme de pourcentage de la substance ou matière d'essai (p. ex., sol de site *contaminé*) par rapport au poids sec du sol.

Contaminant – Substance ou matière présente dans un système naturel ou présente à une concentration plus forte qu'à l'accoutumée, le plus souvent en raison, directement ou non, d'activités anthropiques. Ce terme désigne souvent les substances ou matières atteignant des concentrations susceptibles d'avoir des effets biologiques nocifs.

Contaminé – Qui renferme des substances chimiques ou des matières à des concentrations qui présentent une menace connue ou potentielle pour l'environnement ou la santé humaine.

Eau d'essai – Eau utilisée pour préparer les *solutions mères*, pour rincer les organismes expérimentaux ou la verrerie et d'autres appareils et pour d'autres manipulations associées à la méthode d'essai biologique (p. ex., pour hydrater les échantillons de *sol d'essai*). L'eau d'essai doit être de l'*eau désionisée* ou *distillée*, à défaut d'un meilleur traitement (p. ex., eau de qualité réactif produite par un système d'osmose inverse, au carbone ou à cartouches d'échange d'ions). (V. aussi *eau d'hydratation*.)

Eau d'hydratation – Eau utilisée pour hydrater le sol d'essai afin d'obtenir une *teneur en humidité* appropriée pour les organismes expérimentaux. L'eau d'hydratation est normalement de l'*eau d'essai*, c'est-à-dire de l'eau désionisée ou distillée, de l'eau purifiée par osmose inverse ou de l'eau du robinet déchlorée. Selon le plan et le but de l'étude, une eau superficielle ou une eau souterraine provenant du *site* à l'étude peut remplacer l'eau désionisée ou distillée pour hydrater chaque sol d'essai (y compris le sol témoin négatif). (V. aussi *eau d'essai*, *eau désionisée* et *eau distillée*.)

Eau désionisée – Eau qu'on a purifiée en la faisant passer dans des colonnes de résine ou un système d'osmose inverse pour en extraire les ions en solution, comme Ca^{++} et Mg^{++}.

Eau distillée – Eau ayant été traitée dans un appareil de distillation en verre borosilicaté ou autre matériau pour la débarrasser de ses impuretés.

Échantillon composite – Échantillon constitué d'échantillons *ponctuels* ou *en vrac* provenant d'au moins deux points d'échantillonnage d'un même site (Crépin et Johnson, 1993).

Échantillon de sol en vrac – Échantillon perturbé, habituellement assez volumineux (>1 L), constitué de ≥2 fractions individuelles de sol prélevées dans un lieu d'échantillonnage au moyen d'un échantillonneur. Il s'agit donc d'un *échantillon ponctuel* et non d'un *échantillon composite* (v. aussi *échantillon ponctuel* et *échantillon composite*). Souvent, on prélève des échantillons de sol en vrac afin d'obtenir les volumes élevés dont on a besoin pour les essais biologiques.

Échantillon de sol intact – Échantillon prélevé au moyen d'une méthode n'altérant pas la structure du sol (ISO, 2005). Synonymes : échantillon non perturbé et échantillon non remanié. (V. aussi *échantillon de sol perturbé*.)

Échantillon de sol perturbé – Échantillon prélevé sans tenter de préserver la structure du sol (ISO, 2005). Synonyme : échantillon remanié. (V. aussi *échantillon de sol intact*.)

Échantillon ponctuel – Portion individuelle de sol (p. ex., *carotte*) prélevée sur un lieu d'échantillonnage au moyen d'un échantillonneur.

Enrichissement – Ajout d'une quantité connue d'une substance chimique ou plus, ou encore d'une substance ou matière d'essai ou plus (p. ex., un échantillon de boues de forage) à un sol naturel ou à un *sol artificiel*. Là ou les substances ou matières sont habituellement ajoutées à un *sol témoin négatif*, à un *sol de référence* ou à un autre sol *non contaminé*, mais elles peuvent l'être également à un *sol contaminé* ou susceptible d'être contaminé. Après l'ajout (« enrichissement »), on mélange soigneusement le sol. Lorsque la matière d'essai ajoutée est un *sol de site*, les documents d'Environnement Canada ne qualifient habituellement pas cette manipulation d'enrichissement, mais plutôt de dilution ou simplement d'ajout. (V. aussi *sol enrichi avec une substance chimique* et *sol enrichi*.)

Essai définitif (de toxicité d'un sol) – Se dit d'un essai décisif par opposition à un *essai préliminaire*. (V. aussi *essai préliminaire*.)

Essai préliminaire – Essai de toxicité d'un sol effectué pour obtenir une indication initiale de la toxicité de la matière d'essai dans des conditions définies et pour choisir la plage de concentrations qui sera utilisée dans un essai définitif à concentrations multiples. [V. aussi *essai définitif (de toxicité d'un sol)*.]

Essai toxicologique de référence (ou *essai avec un toxique de référence*) – Essai effectué à l'aide d'un *toxique de référence* parallèlement à un essai de toxicité du sol afin d'estimer la sensibilité des organismes et/ou la précision et la fiabilité des résultats obtenus par le laboratoire pour ce toxique au moment de l'évaluation de la substance ou matière d'essai. Toute déviation par rapport à une plage normale préétablie indique que la sensibilité des organismes expérimentaux ainsi que le rendement et la précision de l'essai sont suspects. L'essai toxicologique de référence avec des plantes prend souvent la forme d'un essai sur un *sol enrichi* avec un étalon chimique.

Fertilité (d'un sol) – Capacité d'un sol de fournir des nutriments dans les quantités, formes et proportions requises pour une *croissance* optimale des végétaux. La fertilité d'un sol est mesurée directement par dosage des ions et des composés importants pour la nutrition des végétaux. Les composantes fondamentales de la fertilité sont constituées des éléments nutritifs essentiels (macro-éléments tels que C, H, O, N, P, K, Ca, Mg et S; micro-éléments tels que Fe, Mn, Mo, B, Cu, Zn et Cl). La fertilité d'un sol est mesurée indirectement par sa productivité (c.-à-d. sa capacité de produire des végétaux qui fournissent aux humains des aliments et des fibres essentiels à la vie; Hausenbuiller, 1985).

Horizon (pédologique ou *de sol)* – Couche de matériau d'un sol minéral ou organique, approximativement parallèle à la surface de la terre et dont les caractéristiques sont modifiées par les processus de formation du sol. Un horizon se différencie des horizons adjacents par des propriétés comme la couleur, la structure, la texture et la consistance ainsi que par sa composition chimique, biologique et minéralogique.

Lieu d'échantillonnage – Endroit précis d'un *site* où s'effectue le prélèvement d'un ou de plus d'un échantillon de sol aux fins des essais toxicologiques et des analyses physicochimiques connexes. Synonyme : station d'échantillonnage.

Lot – Quantité totale d'un *sol d'essai* donné (ou concentration précise de ce dernier) préparée pour chaque traitement (concentration) faisant partie d'un essai. Désigne tout *sol d'essai* hydraté prêt à être subdivisé aux fins des répétitions.

Matière – Substance (il peut y en avoir plus d'une) dont est faite une chose. Ses caractéristiques seraient plus ou moins uniformes. Un sol, un sédiment ou une eau de surface sont des matières. Habituellement, une matière renferme un nombre plus ou moins grand de substances.

Matière organique – Dans le sol, consiste principalement en résidus végétaux et animaux à différents stades de décomposition, y compris l'humus. L'accumulation de matière organique dans le sol est le rapport entre le retour ou l'ajout de résidus végétaux et animaux et leur perte subséquente due à leur décomposition par les micro-organismes présents dans le sol. Pour de nombreux types de sol, l'équation suivante (AESA, 2001) permet d'estimer la teneur totale en matière organique (MO) à partir des mesures du carbone organique total (COT) : % MO = % COT × 1,78. Toutefois, comme la relation entre le COT et la matière organique varie légèrement d'un sol à un autre, la teneur en COT devrait être déterminée également au moyen d'analyses de laboratoire. (V. aussi *carbone organique total*.)

Objectifs de qualité des données – Critères prédéfinis applicables aux données produites ou utilisées dans une étude afin de s'assurer que ces données seront d'une qualité acceptable en regard des besoins qu'elles sont censées combler.

Produit – Préparation commerciale d'une ou de plusieurs substances chimiques. (V. aussi *substance chimique*.)

Site – Terrain délimité utilisé ou envisagé comme zone d'étude, habituellement parce qu'il est considéré comme *contaminé* ou susceptible d'être contaminé par des activités anthropiques.

Sol – Matière entière et intacte représentative du milieu terrestre à l'étude, manipulée le moins possible après son prélèvement ou sa préparation. Dans la nature, le sol est formé par l'altération physique, chimique et biologique (météorisation) des roches et par la décomposition et le recyclage des nutriments de la *matière organique* engendrée par les végétaux et les animaux. Les activités biologiques (p. ex., des micro-organismes, des invertébrés et des plantes) qui s'y déroulent, de même que les activités anthropiques, influent sur ses caractéristiques physicochimiques.

Sol artificiel – Sol préparé en laboratoire pour simuler un sol naturel, avec des proportions précises de constituants naturels de sable, d'argile et de tourbe. Un sol artificiel peut être utilisé comme *sol témoin négatif* et comme diluant pour préparer des concentrations multiples d'un ou de plusieurs *sols de site* ou *sols enrichis avec une substance chimique*.

Sol d'essai – Échantillon de sol prélevé sur le terrain ou *sol enrichi avec une substance chimique*, dont on évalue la toxicité pour des plantes. Dans la présente méthode, le sol d'essai est prélevé par *horizon pédologique*. Parfois, le terme désigne tout échantillon entier ou tout mélange d'échantillons (p. ex., *sol témoin négatif*, *sol témoin positif*, *sol de référence*, déblais de dragage) utilisé dans un essai de toxicité d'un sol.

Sol de référence – En général, sol *non contaminé* prélevé sur le terrain ou sol artificiel (préparé) qui sera utilisé dans un essai toxicologique particulier sur un *sol témoin négatif* et un ou des échantillons de *sol d'essai*. Ce dernier peut être soit un *sol de site contaminé* ou susceptible d'être contaminé, soit un *sol enrichi avec une substance chimique*. Le sol de référence utilisé dans un essai présente souvent des propriétés physicochimiques (p. ex., *texture*, *teneur en matière organique*, teneur en carbone organique, *pH*, *conductivité*, *fertilité*) très comparables à celles du sol d'essai, sauf qu'il n'est pas touché par la source de contamination à l'étude. Aux fins des essais sur un *sol de site*, on recueille souvent un ou des échantillons de sol de référence dans les environs du lieu de prélèvement des échantillons de sol d'essai, de sorte que ce sol de référence peut avoir subi les effets d'autres sources de contamination que la ou les sources étudiées. Le sol de référence permet de décrire les effets de matrice, dans l'essai, et peut aussi servir de diluant dans la préparation des concentrations de sol d'essai. Dans les essais sur *un sol enrichi avec une substance chimique*, on peut choisir un ou des échantillons de sol artificiel (préparé) possédant des caractéristiques physicochimiques différentes pour étudier l'influence de certaines propriétés du sol (p. ex., *texture*, pourcentage de *matière organique*) sur la toxicité d'une substance chimique mélangée à chacun de ces types de sol. (V. aussi *sol témoin négatif*, *sol de site*, *sol d'essai*, *sol non contaminé*, *sol artificiel* et *sol enrichi avec une substance chimique*.)

Sol de site – Échantillon de sol prélevé sur le terrain, à un endroit présumé *contaminé* par une ou des substances chimiques, qu'on se propose d'utiliser dans les essais toxicologiques avec des plantes. Dans certains cas, « sol de site » désigne un *sol de référence* ou un *sol témoin négatif* d'un site donné.

Sol enrichi – Sol naturel ou *sol artificiel* (habituellement un *sol témoin négatif*, un *sol de référence* ou un autre *sol non contaminé*) auquel on a ajouté en laboratoire une ou des substances chimiques, ou encore une ou des substances ou matières d'essai, qu'on a mélangé soigneusement pour répartir uniformément la ou les substances ou matières dans le sol à une concentration précise, afin de constituer un *lot* qui sera utilisé dans un essai de toxicité du sol. (V. aussi *enrichissement*.)

Sol non contaminé – Se dit d'un sol exempt de toute substance ou matière à une concentration ayant des effets toxiques observables chez les organismes expérimentaux.

Sol témoin – V. *sol témoin négatif*.

Sol témoin négatif – Sol qui ne contient aucun contaminant à des concentrations susceptibles d'avoir une incidence sur la *levée*, la survie ou la croissance des organismes expérimentaux. Un sol témoin négatif peut être soit un sol naturel provenant d'un *site* non contaminé, soit un sol artificiel (préparé). Il ne doit contenir aucune substance ou matière d'essai ajoutée et il doit permettre un taux de levée et de croissance acceptables des plantes pendant l'essai. Un sol témoin négatif sert de base pour l'interprétation des données des essais toxicologiques sur un ou des sols d'essai.

Sol témoin positif – Sol qui contient un ou des contaminants à des concentrations connues et qui ont un effet nocif sur la *levée*, la survie ou la *croissance* des organismes expérimentaux dans la méthode d'essai décrite dans le présent document. On peut utiliser un sol témoin positif comme *toxique de référence* pour estimer la sensibilité des organismes expérimentaux lorsqu'on évalue la substance ou matière d'essai, de même que pour déterminer la précision des résultats obtenus par le laboratoire en regard de ce toxique de référence.

Solution mère – Solution concentrée de la ou des substances d'essai. On ajoute et on mélange soigneusement une quantité mesurée de cette solution à un échantillon de sol naturel ou de *sol artificiel* pour préparer un *lot* de *sol enrichi avec une substance chimique*. Pour obtenir la concentration requise de la solution mère, on ajoute des quantités ou des volumes mesurés de la ou des substances chimiques d'essai à de l'eau d'essai (*eau désionisée*, *eau distillée* ou l'équivalent), avec ou sans ajout d'un solvant organique.

Substance – Matière particulière ayant des propriétés plus ou moins uniformes. Le terme a un sens plus restreint que *matière* et pourrait s'employer pour désigner, par exemple, une substance chimique, un élément naturel ou un produit manufacturé.

Substance chimique – Tout élément, composé, préparation, produit chimique ou mélange d'une substance qui pourrait être associé à de l'eau ou à un sol, ou qui pourrait pénétrer dans l'environnement par suite d'un déversement, d'un épandage ou d'un rejet.

Témoin – Dans une enquête ou une étude, traitement reproduisant toutes les conditions et tous les facteurs qui pourraient influer sur les résultats, sauf la condition particulière étudiée. Dans un essai toxicologique, le témoin doit reproduire toutes les conditions du ou des traitements d'exposition, mais il ne doit pas renfermer de substance ou matière d'essai contaminée. Le témoin sert à vérifier l'absence de toxicité mesurable attribuable aux conditions de base de l'essai (p. ex., température, santé des organismes expérimentaux, effets de la manipulation de ces derniers). Le terme témoin est synonyme de témoin négatif, à moins d'indication contraire.

Témoin négatif – V. *témoin*.

Témoin sol-solvant – Échantillon de sol inclus dans un essai sur un *sol enrichi avec une substance chimique* dans lequel il est nécessaire d'introduire un solvant organique pour solubiliser la substance chimique d'essai avant de la mélanger avec une quantité mesurée de *sol témoin négatif*. Le volume de solvant utilisé dans la préparation du témoin sol-solvant doit contenir la même concentration d'agent solubilisant que l'échantillon de sol enrichi contenant la plus forte concentration de la ou des substances chimiques d'essai. Cette concentration de solvant ne devrait pas avoir d'effet néfaste sur les plantes pendant l'essai. Tout essai dans lequel on utilise un solvant organique pour préparer une ou des concentrations de *sol enrichi avec une substance chimique* doit inclure un témoin sol-solvant. (V. aussi *sol artificiel*, *sol témoin négatif* et *sol enrichi avec une substance chimique*.)

Teneur en humidité – Pourcentage d'eau dans un échantillon de sol d'essai, par rapport au poids sec ou humide de celui-ci. Pour déterminer ce pourcentage, on mesure les poids sec et humide d'un sous-échantillon de sol. On calcule ensuite la teneur en humidité du sol par rapport à son poids sec en divisant le poids de l'eau du sous-échantillon (poids humide moins poids sec) par le poids du sol sec et en multipliant le résultat par 100. On doit utiliser la même unité de poids (p. ex., g ou mg) dans tous les cas.

Texture – Caractéristique définie en fonction du pourcentage pondéral de sable, de limon et d'argile dans la fraction minérale du sol. La texture renseigne sur les caractéristiques et le comportement généraux des substances présentes dans le sol, plus particulièrement lorsqu'on connaît la structure du sol et sa teneur en matière organique. La présente méthode se fonde sur les descriptions des textures de sol du Système canadien de classification des sols (AAC, 1998) et non du système de classification unifié des sols, de la United States Soil Conservation Service Classification ou de tout autre système de classification utilisé dans la science des sols, en ingénierie ou en géologie. La texture d'un sol est déterminée en laboratoire par l'analyse de la composition granulométrique en deux étapes : les particules de sable (fragments grossiers) sont tout d'abord séparées des particules de limon et d'argile par tamisage, puis les particules de limon et d'argile sont séparées par sédimentation dans l'eau. Les systèmes de classification texturale regroupent habituellement les sols selon des plages de quantités relatives de sable, de limon et d'argile. Il existe trois grandes classes de texture :

(i) texture grossière (sables, sables loameux, loams sableux);
(ii) texture moyenne (loams, loams limoneux, limons, loams sableux très fins);
(iii) texture fine (argiles, loams limono-argileux, loams sablo-argileux, argiles limoneuses, argiles sableuses).

On peut aller plus loin dans la distinction des sols en fonction de la texture (p. ex., argile sableuse, loam limoneux, loam) en utilisant le système canadien de classification fondé sur les proportions relatives de sable, de limon et d'argile (AAC, 1998).

Toxique de référence – Étalon chimique permettant d'établir la fiabilité des données sur la toxicité d'une substance ou matière d'essai. Dans la plupart des cas, on procède à un essai de toxicité avec un toxique de référence afin d'estimer la sensibilité des organismes ainsi que la précision et la fiabilité des résultats obtenus en regard de cette substance au moment où on évalue la substance ou matière d'essai.

Termes relatifs aux statistiques et à la toxicologie

a priori – Se dit de ce qui est indépendant de l'expérience. Dans le contexte des plans d'expérience et de la statistique, un essai planifié avant la collecte de données constitue un essai a priori. Les objectifs et le plan d'expérience influeraient sur les décisions quant au choix de l'essai a priori à exécuter. (V. aussi *post-hoc*.)

Aigu – Qui se manifeste à l'intérieur d'une période d'exposition relativement courte (secondes, minutes, heures, quelques jours) par rapport à la durée de vie de l'organisme expérimental.

Carte de contrôle – Diagramme servant à suivre l'évolution des effets mesurés d'un *toxique de référence*. La date de l'essai se trouve sur l'axe horizontal; sur l'axe logarithmique vertical, on porte la concentration à laquelle l'effet est observé.

CI_p ou *concentration inhibitrice correspondant à un pourcentage d'effet (précisé)* – Concentration estimative ponctuelle d'une substance ou matière d'essai qui inhibe, selon le pourcentage précisé (p), un paramètre biologique *quantitatif* (continu), comme la longueur des pousses de chaque plante à la fin de l'essai, par rapport au groupe témoin.

CMEO ou *concentration minimale avec effet observé* – Concentration la plus basse d'une substance ou matière d'essai causant, chez les organismes qui y sont exposés, un effet statistiquement significatif par rapport au groupe témoin.

Coefficient de variation – Écart type (ET) d'un ensemble de données divisé par la moyenne de l'ensemble de données, exprimé sous forme de pourcentage. Le coefficient de variation (CV) est calculé à l'aide de la formule suivante : CV (%) = 100 × (ET ÷ moyenne).

CSEO ou *concentration sans effet observé* – Concentration la plus élevée de la substance ou matière d'essai ne causant, chez les organismes qui y sont exposés, aucun effet statistiquement significatif par rapport au groupe témoin.

Écotoxicologie – Subdivision de la *toxicologie* ayant la même définition générale; toutefois, elle s'intéresse avant tout aux écosystèmes, aux communautés naturelles et aux espèces sauvages, sans exclure les humains des écosystèmes.

En conditions statiques – Se dit d'un essai toxicologique au cours duquel le *sol d'essai* (ou la substance chimique qu'il contient) n'est pas renouvelé ou remplacé. Synonyme : sans renouvellement.

*Essai toxicologique (*ou *essai de toxicité)* – Essai permettant de déterminer l'effet d'une substance ou matière sur un groupe d'organismes choisis, dans des conditions définies. Au cours d'un essai sur un ou des échantillons de *sol d'essai*, on mesure habituellement la proportion d'organismes touchés (*effet quantique*) et/ou le degré de l'effet observé (effet *quantitatif* ou gradué), après exposition des organismes expérimentaux à un ou des échantillons non dilués ou dilués à une concentration donnée.

Évaluation visuelle – Examen de tout effet phytotoxique (*malformation*, *chlorose*, *nécrose*, *défoliation*, *dessiccation*, *marbrure*, *coloration anormale*, *flétrissement* ou *fanaison*) qui se manifeste chez les organismes expérimentaux exposés à un échantillon de sol *contaminé*, par rapport aux organismes cultivés dans un sol témoin négatif.

Hétéroscédasticité – Propriété des données dont le diagramme de dispersion se caractérise par une hétérogénéité des résidus (v. EC, 2005b). Ce terme s'applique lorsque la variance des résidus est passablement différente de celle des variables indépendantes (c.-à-d. les concentrations d'essai ou de traitement). Lorsqu'on effectue des analyses statistiques et qu'on évalue les résidus (p. ex., à l'aide du test de Levene), dans le cas de données dénotant une hétéroscédasticité (ou hétérogénéité des résidus), on observe une différence importante dans la variance des résidus pour toutes les concentrations d'essai ou de traitement. (V. aussi *homoscédasticité* et *résidu*.)

Homoscédasticité – Propriété des données dont le diagramme de dispersion se caractérise par une homogénéité des résidus (v. EC, 2005b). Ce terme s'applique lorsque la variance des résidus n'est pratiquement pas différente de celle des variables indépendantes (c.-à-d. les concentrations d'essai ou de traitement). Lorsqu'on effectue des analyses statistiques et qu'on évalue les résidus (p. ex., à l'aide du test de Levene), dans le cas de données dénotant une homoscédasticité (ou homogénéité des résidus), on n'observe aucune différence importante dans la variance des résidus pour toutes les concentrations d'essai ou de traitement. (V. aussi *hétéroscédasticité* et *résidu*.)

Limite de contrôle – Limite, calculée logarithmiquement, située à plus ou moins deux écarts types (±2 ET), de part et d'autre de la moyenne géométrique historique des paramètres de mesure d'essais avec un *toxique de référence*.

Moyenne géométrique – Moyenne des mesures répétées, calculée logarithmiquement. La moyenne géométrique a pour avantage d'atténuer l'influence qu'exercent les valeurs extrêmes sur la moyenne, comme lorsqu'une moyenne arithmétique est établie. On peut calculer la moyenne géométrique comme étant la racine énième du produit de « n » valeurs et, aussi, comme l'antilogarithme de la moyenne des logarithmes de « n » valeurs.

Normalité (ou *distribution normale*) – Désigne une série de données d'observation décrivant une courbe symétrique en forme de cloche. Cette série met en lien la fréquence d'occurrence et l'ampleur du phénomène mesuré. Dans une *distribution normale*, la plupart des données d'observation se regroupent près de la valeur moyenne et deviennent progressivement moins nombreuses à mesure qu'on se rapproche des extrêmes de la plage de valeurs. La distribution normale joue un rôle central dans la théorie statistique en raison de ses propriétés mathématiques. Elle revêt également une grande importance dans les sciences biologiques du fait que beaucoup de phénomènes biologiques suivent la même courbe. Dans un bon nombre de tests statistiques, on présume que les données suivent une courbe de distribution normale, de sorte qu'il peut être nécessaire de déterminer si c'est le cas d'un ensemble de données en particulier.

Paramètre – Mesure ou valeur (il peut y en avoir plus d'une) caractérisant les résultats d'un essai (p. ex., CI_{25}). La réponse des organismes expérimentaux (p. ex., longueur et poids des pousses ou des racines) constitue également un paramètre.

Phytotoxicité – Toxicité envers les plantes. La phytotoxicité s'observe par un écart négatif indésirable, par rapport à la normale, dans l'aspect, la *croissance* et/ou la fonction des plantes exposées à la matière d'essai. Elle peut se manifester pendant la *germination*, la différenciation de croissance et/ou la maturation des plantes.

post-hoc – Se dit d'une chose postérieure à une autre. Dans le contexte des plans d'expérience et de la statistique, un test qu'on décide d'exécuter après la collecte de données constitue un test *post-hoc*. Dans un sens plus général, un test *post-hoc* vise à déterminer quelles moyennes des traitements diffèrent les unes des autres, et ce, afin de contrôler le taux d'erreur global de type I. (V. aussi *a priori*.)

Précision – Degré de rapprochement des données recueillies au cours de mesures répétées de la même quantité. La précision décrit le degré de certitude entourant un résultat ou le rapprochement des valeurs d'un paramètre dérivées d'une analyse statistique, comme la CI_p.

Quantique – Dans un essai toxicologique, qualifie un effet binaire, c'est-à-dire un effet qui se manifeste ou non chez les organismes expérimentaux. Par exemple, une plantule peut lever ou non dans un sol d'essai *contaminé*. Un effet quantique est généralement exprimé sous forme de nombre ou de pourcentage. (V. aussi *quantitatif*.)

Quantitatif – Dans un essai toxicologique, qualifie un effet dont la valeur mesurée varie continuellement sur une échelle numérique, par exemple, la longueur des pousses des plantules levées ou le poids sec des racines à la fin de l'essai. En règle générale, les effets quantitatifs sont déterminés et exprimés par des mesures. (V. aussi *quantique*).

Répétition (traitement, récipient d'essai) – Récipient d'essai individuel renfermant un nombre prescrit d'organismes exposés soit à une concentration de la substance ou matière d'essai, soit à un traitement témoin ou de référence. Comme il s'agit d'une unité expérimentale indépendante, tout transfert d'organisme ou de matière d'essai d'un récipient à un autre invaliderait l'analyse statistique fondée sur la répétition (v. 5.1 et 5.5.1 plus loin, et 2.5 dans EC, 2005b).

Réplicat – Échantillon de sol prélevé indépendamment dans un même *lieu d'échantillonnage* afin d'obtenir une estimation de l'erreur d'échantillonnage ou d'améliorer la justesse de l'estimation. Lorsqu'un seul échantillon de sol est prélevé, il est traité comme un réplicat. Les échantillons additionnels sont considérés comme des réplicats supplémentaires s'ils sont traités de la même façon (peu importe qu'il s'agisse d'échantillons *ponctuels* ou d'échantillons *composites* provenant du même lieu), mais entreposés dans des récipients à échantillon distincts (en d'autres termes, échantillons non regroupés ou, dans le cas d'échantillons composites, sans autre regroupement).

Résidu – Dans le contexte de la sous-section 4.8.2.1, écart entre la valeur estimative prévue (selon le modèle) et la valeur réelle observée. On établit cet écart en soustrayant la première valeur de la seconde. (V. aussi *hétéroscédasticité* et *homoscédasticité*.)

Sans renouvellement – V. *en conditions statiques*.

Sublétal – Se dit d'un effet nuisible se manifestant en deçà de la concentration ou du niveau de contamination causant directement la mort d'un organisme au cours d'un essai.

Toxicité – Capacité d'une substance ou matière de provoquer, chez les organismes vivants, un ou des effets nocifs tant létaux que sublétaux.

Toxicité aiguë – Manifestation chez l'organisme expérimental d'un effet létal ou sublétal discernable après une courte période d'exposition (habituellement quelques jours) à un ou des *sols d'essai*. (V. *aigu*.)

Toxicologie – Science qui étudie la toxicité des substances, des matières ou des conditions d'un milieu. Cette science fait appel à une gamme illimitée de disciplines scientifiques, d'outils de laboratoire/de terrain ou d'études à divers niveaux d'organisation allant de la molécule à une espèce individuelle, à une population ou à une communauté. La toxicologie appliquée se propose normalement de définir la marge de sécurité de l'emploi d'une substance chimique ou d'autres agents. (V. aussi *écotoxicologie*.)

Toxique – Désigne ou qualifie une substance ou une matière ayant des effets nocifs sur des organismes si elle se trouve en quantité suffisante, au bon endroit.

Traitement – Désigne un *sol d'essai* précis (p. ex., *sol de site*, *sol de référence* ou *sol témoin négatif*) provenant d'un *lieu d'échantillonnage* donné, ou une concentration de *sol enrichi avec une substance chimique* (ou un mélange de sol d'essai dilué avec un sol *non contaminé*) préparé en laboratoire. Le sol d'essai en question est généralement subdivisé aux fins d'un essai toxicologique. (V. aussi *répétition* et *réplicat*.)

Remerciements

Le présent document a été rédigé par M.J. Moody et B.C. Godwin [Saskatchewan Research Council (SRC), Saskatoon (SK)] et J.A. Miller [Miller Environmental Sciences Inc., King City (ON)]. R.P. Scroggins [Section de l'évaluation biologique et normalisation, Environnement Canada, Ottawa (ON)] a agi comme responsable scientifique, en plus d'apporter une aide technique et d'orienter les travaux. J.I. Princz [Laboratoire de toxicologie des sols (LTS), Section de l'évaluation biologique et normalisation, Environnement Canada, Ottawa (ON)] et L. Van der Vliet [Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON)] ont fourni aux auteurs des conseils précieux et des données techniques. La Section de la toxicologie du SRC, sous la direction de M.J. Moody, s'est chargée des études connexes à la présente méthode. D'autres études ont été exécutées par le LTS, sous la direction de J.I. Princz. Les auteurs remercient D. Bolin, R. Suchan, C. Yackel et V. Ziegler (SRC), de même que H. Lemieux et M. Malette (LTS), pour leur contribution à la mise au point de la présente méthode d'essai biologique.

Le LTS a coordonné les essais interlaboratoires de validation de la méthode exécutés par les laboratoires suivants : Exova [Edmonton (AB)], HydroQual Laboratories Ltd. [Calgary (AB)], Maxxam Analytics [Burnaby (BC)], SRC [Saskatoon (SK)] et Stantec [Guelph (ON)]. Les noms des membres du personnel de ces laboratoires apparaissent dans le rapport technique portant sur ces essais (EC, 2013a).

Nous tenons à souligner la contribution des personnes suivantes, qui ont participé au classement des espèces végétales de la région boréale par ordre de priorité : B. Godwin, J. Thorpe et M. Johnston (SRC) ainsi que D. Jiricka et M. McLaughlan [Ministère de l'Environnement de la Saskatchewan, Prince Albert (SK)].

La Section de l'évaluation biologique et normalisation remercie J. Nelson [EcoDynamics Consulting Inc., Prince Albert (SK)] et ses collègues, qui ont aidé le personnel des laboratoires d'Environnement Canada et du SRC à identifier et à échantillonner la plupart des sols de référence et des sols contaminés de la forêt boréale.

Enfin, nous sommes très reconnaissants du soutien financier indéfectible obtenu du Programme de recherche et de développement énergétiques, soutien qui a permis de mettre au point et de valider la méthode d'essai originale décrite dans le présent document.

Introduction

1.1 Contexte

L'*Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes* (UEAM) d'Environnement Canada est responsable de mettre au point, de normaliser et de publier des méthodes d'essai biologique (v. annexe A) applicables à la mesure et à l'évaluation, dans des conditions de laboratoire contrôlées et définies, des effets *toxiques* d'échantillons de *matières* ou de *substances* d'essai sur des organismes terrestres ou aquatiques (essais monospécifiques). En 1994, l'UEAM, l'Association canadienne des producteurs de pétrole et le gouvernement fédéral, par le biais du Groupe interministériel de recherche et d'exploitation énergétiques, ont lancé un programme pluriannuel afin d'étudier, de concevoir, de valider et de publier un certain nombre de méthodes d'essai biologique normalisées pour mesurer la *toxicité* d'échantillons de sol *contaminé* ou susceptible d'être contaminé, en faisant appel à des espèces terrestres appropriées d'organismes expérimentaux. Le programme avait pour but de mettre au point de nouvelles méthodes applicables à divers types de *sols* canadiens auxquels seraient exposées des espèces terrestres représentatives des écosystèmes de ces sols. La phase initiale de ce programme pluriannuel comprenait un examen exhaustif des méthodes d'essai biologique utilisées dans le monde pour évaluer la toxicité de sols *contaminés* pour des plantes et des invertébrés terrestres. Les auteurs du rapport rédigé au terme de cet examen ont recommandé qu'Environnement Canada appuie l'élaboration, la normalisation et la publication d'un certain nombre de méthodes d'essai biologique monospécifique servant à mesurer la toxicité d'échantillons de sol, y compris pour des plantes terrestres (Bonnell Environmental Consulting, 1994). Cette recommandation a reçu l'aval de l'administration centrale et des bureaux régionaux d'Environnement Canada (v. annexe B) ainsi que du Groupe intergouvernemental sur les essais écotoxicologiques (v. annexe C).

Depuis 1994, Environnement Canada a publié diverses méthodes d'essai biologique normalisées, dont les suivantes : Essai pour déterminer la toxicité de sols contaminés pour les vers de terre (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida* ou *Lumbricus terrestris*), SPE 1/RM/43 (EC, 2004a); Essai de mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres exposées à des contaminants dans le sol, SPE 1/RM/45 (EC, 2005a); Essai de mesure de la survie et de la reproduction de collemboles exposés à des contaminants dans le sol, SPE 1/RM/47 (EC, 2007a).

En 2003, l'UEAM a tenu un atelier de trois jours sur l'évaluation toxicologique de sols du Canada et sur la mise au point de méthodes d'essai normalisées. À partir de la documentation distribuée avant l'atelier (un questionnaire), des séances plénières et des discussions des groupes de travail, les participants ont cerné des domaines prioritaires en matière de recherche et développement. Ils ont recommandé de prioriser l'affectation de ressources à la mise au point de méthodes d'essai avec des plantes plus représentatives de sols et/ou d'habitats non agricoles. Étant donné que les écozones de la région boréale et de la taïga couvrent >50 % de la masse continentale du Canada et que leurs ressources pétrolières, gazières, minières et forestières revêtent une grande importance pour l'économie canadienne, il a été décidé de s'intéresser avant tout à la conception d'essais normalisés applicables à l'évaluation de *contaminants* présents dans des sols de la forêt boréale. Depuis ce temps, on a consacré plusieurs années de recherche au choix d'organismes expérimentaux sensibles convenant à la mesure de la toxicité de différents types de sols afin de répondre aux besoins de l'industrie et de satisfaire aux exigences canadiennes en matière de réglementation et de *surveillance*, de même qu'à la mise au point de méthodes d'essai biologique appropriées. On a produit un rapport technique décrivant les critères de sélection des espèces expérimentales et renfermant des recommandations quant aux plantes de la région boréale convenant aux essais (SRC, 2003). Des rapports ultérieurs ont porté sur divers aspects de la méthode, dont l'obtention, la *germination* et la *stratification* des *graines*, la durée des essais, la *croissance* dans des sols de référence et les essais avec un *toxique de référence* (SRC, 2004, 2006). On s'est aussi penché sur la tolérance des espèces au *pH* du sol, la variation des sources de graines,

l'amélioration de la *levée* des graines de bouleau à papier et les essais sur des *carottes* de sol intact, des sols de référence et des sols contaminés par des saumures et des hydrocarbures (EC et SRC, 2007; SRC, 2007, 2008, 2009, 2012; EC, 2010, 2013b). La méthode décrite dans le présent document est basée sur la méthode d'essai biologique d'Environnement Canada intitulée *Essai de mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres exposées à des contaminants dans le sol* (EC, 2005a); elle comporte les modifications qui s'imposaient aux fins des essais avec des espèces végétales de la région boréale.

Environnement Canada a coordonné ou appuyé de nombreux *essais de toxicité* avec diverses espèces de plantes indigènes de la région boréale exposées à des échantillons de sol contaminé par des métaux, des sels, des hydrocarbures ou des *toxiques de référence* potentiels. Ces études (SRC, 2003, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC et SRC, 2007; EC 2010, 2013b) étaient axées sur la mise au point et la normalisation d'essais de toxicité *sublétale*. En se basant sur les résultats de ces travaux et sur les conclusions d'une série d'études interlaboratoires de validation (EC, 2013a), Environnement Canada a entrepris de préparer et de présenter sous sa forme définitive la méthode d'essai biologique décrite dans le présent document. Cette méthode s'applique à des essais d'inhibition de la *croissance* de plantes terrestres indigènes de la région boréale exposées à des échantillons de sol contaminé.

Un groupe d'écologistes ayant une longue expérience en ce qui concerne la forêt boréale (v. annexe D) a examiné les espèces végétales candidates et les a classées par ordre de priorité en fonction de critères précis (SRC, 2003).

Le présent document décrit en détail les conditions et modes opératoires connexes à l'application de la méthode d'essai. Sont décrites également les procédures universelles de préparation et d'exécution des essais de toxicité d'un sol avec des espèces choisies de plantes indigènes de la région boréale. Ces espèces sont les suivantes : peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*), verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*), bouleau à papier (*Betula papyrifera*), pin gris (*Pinus banksiana*), épinette blanche (*Picea glauca*), épinette noire (*Picea mariana*). Des conseils sont fournis au sujet des ensembles particuliers de conditions et modes opératoires qui sont exigés ou recommandés lorsque la méthode d'essai biologique vise l'évaluation de différents types de *substances* ou *matières* (p. ex., des échantillons de sol ou de déchets particulaires prélevés sur le terrain ou des échantillons d'une *substance chimique* ou plus mélangée ou mise en contact en laboratoire avec un sol naturel ou artificiel). Le *paramètre* biologique de la présente méthode est la *croissance* des plantes (d'après la longueur et le poids sec des *pousses* et des *racines* survivantes), qu'on mesure à la fin de l'essai. Étant donné l'absence de sensibilité du paramètre de *levée*, celui-ci n'est pas inclus en tant que paramètre statistique, mais il est mesuré dans tous les récipients d'essai (détermination du poids sec moyen des pousses et des racines de chaque plante) et dans les traitements *témoins* (validité de l'essai).

Le diagramme de la figure 1 donne un aperçu général des sujets universels abordés ici. Il énumère les aspects particuliers qui concernent expressément les essais sur des échantillons de sol ou de déchets particulaires prélevés sur le terrain (p. ex., déblais de dragage) ou de *sol enrichi* en laboratoire avec une ou des substances chimiques.

La méthode d'essai a été conçue pour évaluer la toxicité *sublétale* d'échantillons de matière, notamment :

1) un sol prélevé sur le terrain, *contaminé* ou susceptible d'être contaminé;
2) un sol qu'on envisage d'éliminer ou d'*assainir*;
3) un sol contaminé ou *non contaminé* (naturel ou artificiel), enrichi avec une ou des substances chimiques (p. ex., pour une *évaluation du risque* que posent des substances chimiques nouvelles ou d'utilisation courante).

Dans la mise au point de la présente méthode d'essai biologique, on s'est efforcé de trouver un équilibre entre les considérations scientifiques, pratiques et pécuniaires et de faire en sorte que les résultats soient suffisamment précis pour la plupart des situations auxquelles ils seront appliqués. On suppose que l'utilisateur a une certaine connaissance des essais de toxicité de sols. Des instructions précises en lien avec les exigences d'un *protocole* réglementaire ne sont pas fournies dans le présent document, mais ce dernier se veut néanmoins un document d'orientation utile dans le contexte d'un tel protocole et pour d'autres applications.

Le lecteur qui souhaite obtenir des indications sur la mise en œuvre de la présente méthode d'essai biologique et d'autres méthodes, de même que sur l'interprétation et l'application des données relatives aux *paramètres* mesurés afin de déterminer la toxicité d'un sol, est invité à consulter les sous-sections 4.12, 5.5 et 5.6.4 de EC (1999a).

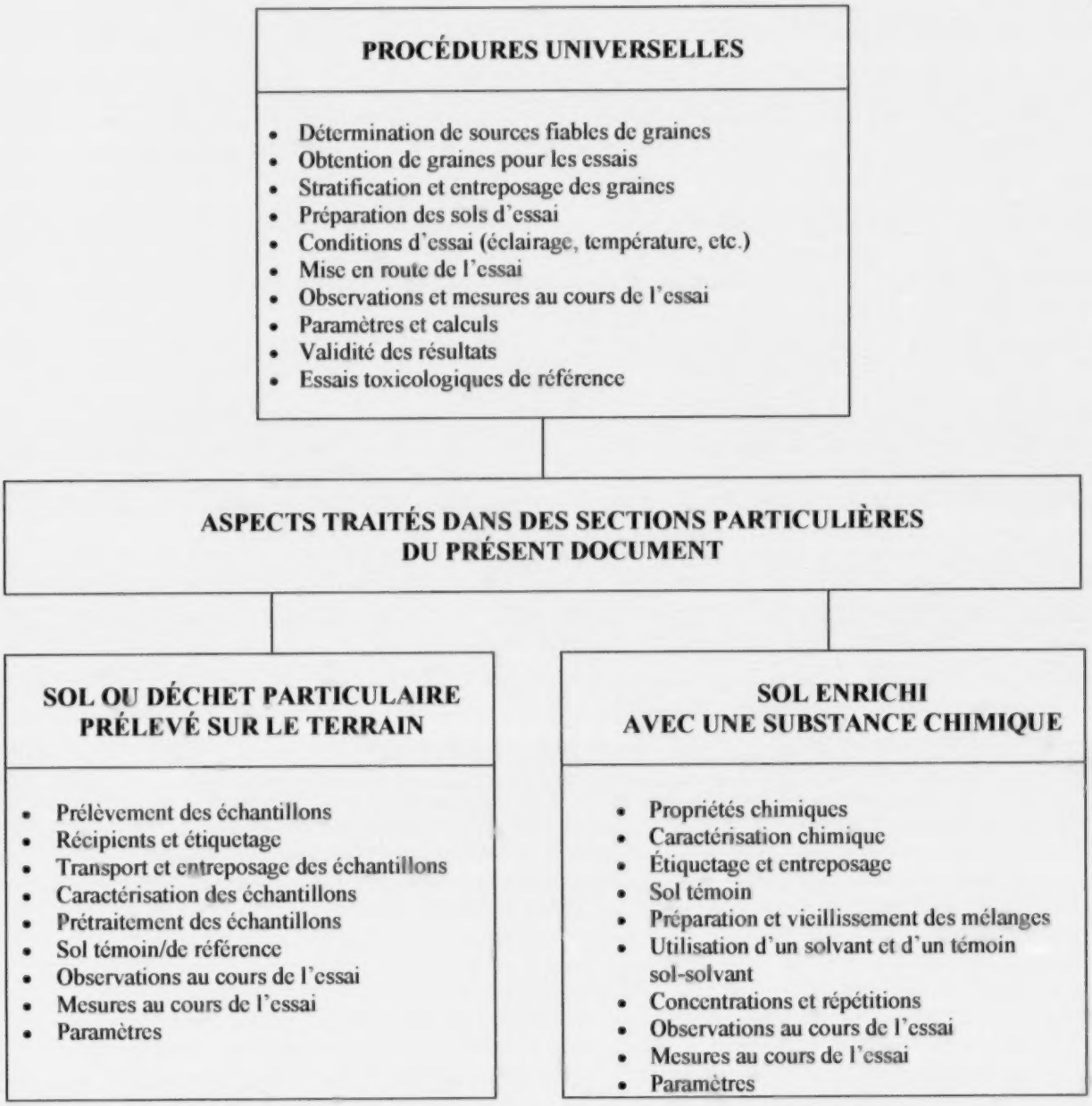


Figure 1. Points à considérer dans la préparation et l'exécution d'essais de toxicité de sols avec des plantes de la région boréale et divers types de substances ou matières d'essai

1.2 Choix des espèces expérimentales

On a examiné les données sur les associations végétales des hautes-terres de la forêt boréale en vue de dresser une liste d'espèces parmi lesquelles on pourrait choisir des espèces expérimentales écologiquement pertinentes (SRC, 2003). La forêt boréale s'étend dans les sept écozones suivantes, telles qu'elles sont définies dans AAC (sans date) : taïga des plaines, taïga du bouclier, bouclier boréal, plaines boréales, taïga de la cordillère, cordillère boréale, plaines hudsoniennes. Les territoires et provinces où on trouve des régions forestières faisant partie de ces écozones sont le Yukon, les Territoires du Nord-Ouest, le Nunavut, la Colombie-Britannique, l'Alberta, la Saskatchewan, le Manitoba, l'Ontario, le Québec et Terre-Neuve-et-Labrador. Même si le Nouveau-Brunswick, la Nouvelle-Écosse et l'Île-du-Prince-Édouard se trouvent entièrement dans l'écozone maritime de l'Atlantique, leurs forêts comptent de nombreuses espèces de plantes boréales, et on peut considérer que certaines de leurs régions forestières sont de type boréal, tout comme on estime que la plupart des peuplements de l'écorégion de la tremblaie-parc de l'écozone des prairies sont des enclaves de la forêt boréale.

Sur une liste initiale de 219 espèces candidates, on en a choisi 40 d'après 8 critères préétablis d'importance variable (SRC, 2003), dont les espèces jugées :

1) extrêmement importantes :
   - reproduction à partir de graines (on a exclu les plantes ayant des graines microscopiques ou se reproduisant à partir de spores);
   - espèce indigène (on a exclu les espèces exotiques);
   - vaste répartition (on a exclu les espèces non établies dans au moins la moitié de la forêt boréale dans son orientation est-ouest, la limite se trouvant entre l'Ontario et le Manitoba);

2) modérément importantes :
   - préoccupations d'ordre taxinomique (on a exclu les espèces difficiles à identifier ou que le fournisseur risque de mal identifier);
   - taux de croissance (on a exclu les plantes à croissance lente et peu susceptibles de donner des *plantules* de taille raisonnable dans les premiers stades de croissance);
   - tolérance au stress (on a exclu les espèces de la famille des Éricacées du fait qu'elles sont très tolérantes au stress);

3) moins importantes :
   - abondance (on a exclu les espèces rares, menacées ou sporadiques);
   - habitat boréal des hautes-terres (on a exclu les espèces boréales qui prédominent dans des habitats humides ou atypiques ou qui abondent surtout dans d'autres écosystèmes).

La liste des espèces a ensuite été réduite à 20[1] à l'issue d'un classement effectué par un groupe d'écologistes (v. annexe D), qui se sont fondés sur deux facteurs :

1) croissance rapide à partir de la graine;
2) graines disponibles auprès de fournisseurs gouvernementaux ou commerciaux, ou facilité de collecte de graines sauvages.

Étant donné que de nombreuses espèces étaient de rang identique, on a jugé prudent de retenir des plantes tant ligneuses (sur les six espèces d'arbres et les cinq espèces d'arbrisseaux) qu'*herbacées* (sur les sept espèces d'*herbes non graminéennes* et les deux espèces de graminées) dans la liste définitive. Chaque espèce a été évaluée (SRC, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009) d'après les critères utilisés pour déterminer si elle se prêtait à la méthode d'essai d'Environnement Canada déjà en usage pour la mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres (EC, 2005a). Il a fallu modifier ladite méthode, principalement parce que les graines de certaines espèces indigènes exigeaient une *stratification* et que les essais duraient plus longtemps. Les graines provenaient de sources commerciales ou gouvernementales canadiennes afin que leurs traits génétiques reflètent au moins une région du Canada. À la lumière d'ouvrages scientifiques ou d'expériences de laboratoire, on a examiné des aspects de la méthode d'essai, dont les suivants : stratification et *germination* des *graines*, croissance de *plantules* d'une taille raisonnable dans

[1] Ces espèces sont les suivantes : actée rouge (*Actaea rubra*), amélanchier à feuilles d'aulne (*Amelanchier alnifolia*), aralie à tige nue (*Aralia nudicaulis*), aster de Lindley (*Aster ciliolatus*), berce laineuse (*Heracleum lanatum*), bouleau à papier (*Betula papyrifera*), calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*), cerisier de Pennsylvanie (*Prunus pensylvanica*), cerisier de Virginie (*Prunus virginiana*), épilobe à feuilles étroites (*Chamerion angustifolium*), épinette blanche (*Picea glauca*), épinette noire (*Picea mariana*), framboisier (*Rubus idaeus*), mertensia paniculé (*Mertensia paniculata*), peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), pin gris (*Pinus banksiana*), ronce pubescente (*Rubus pubescens*), rosier aciculaire (*Rosa acicularis*), sapin baumier (*Abies balsamea*), schizachné pourpré (*Schizachne purpurascens*).

un *sol artificiel* et un sol forestier de référence, disposition en couches des *horizons pédologiques* naturels, durée de l'essai, *biomasse* à la fin de l'essai, facilité de manipulation pendant l'essai. L'épilobe à feuilles étroites (*Chamerion angustifolium*) a été écarté du fait que la fragilité de ses racines pendant la manipulation entraînait une perte de biomasse à la fin de l'essai. La verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*) a été ajoutée au nombre des espèces retenues en raison de sa pertinence écologique et de sa bonne performance pendant les essais de croissance (SRC, 2004). Le bouleau à papier (*Betula papyrifera*) a aussi été ajouté en tant que *feuillu* tolérant à l'acide.

La performance des espèces expérimentales a été évaluée au cours d'essais de *croissance* dans huit sols forestiers de référence provenant de différents endroits du pays et représentant une vaste gamme de types de sols[2]. Les essais avec un *toxique de référence* (acide borique) et sur des sols contaminés par des sels et des hydrocarbures ont montré que les espèces expérimentales présentaient divers degrés de sensibilité aux différents *toxiques* (SRC, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC et SRC, 2007; EC, 2010, 2013b).

Les sept espèces végétales de la région boréale retenues aux fins de la présente méthode d'essai sont décrites en détail dans les sous-sections qui suivent et leurs caractéristiques sont résumées au tableau 1. L'annexe F présente les caractéristiques physicochimiques des sols.

*1.2.1 Peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides *Michx.)*

Le peuplier faux-tremble, un membre de la famille des Salicacées, est aussi appelé tremble. Il s'agit d'un *feuillu dioïque* (fleurs mâles et fleurs femelles sur des arbres distincts). Ses petites feuilles arrondies et *acuminées* portent un pétiole distinctif très aplati et s'agitent au moindre vent. L'écorce est lisse et varie du vert pâle au gris; elle devient souvent noire et écaillée près du sol, à mesure que l'arbre vieillit. Le bois du peuplier faux-tremble entre dans la fabrication de contreplaqué, de placage, de panneaux à copeaux orientés, de panneaux gaufrés et de pulpe; on s'en sert aussi comme bois de sciage, mais dans une moindre mesure (Watson et coll., 1980; Howard, 1996). Comme sa teneur en protéines est plus élevée que la plupart des autres *brouts*, le peuplier faux-tremble est une source notable d'alimentation pour les ongulés de grande taille et les petits mammifères, surtout en automne et en hiver. Les tremblaies fournissent un important habitat de reproduction à de nombreuses espèces d'oiseaux (Watson et coll., 1980; Howard, 1996).

Le peuplier faux-tremble est une plante *dicotylédone* à *germination épigée*. Sa durée de vie est relativement courte. Les tremblaies commencent généralement à dégénérer 80-100 ans après leur établissement (Watson et coll., 1980). Les arbres les plus vieux atteignent ~200 ans tout au plus, mais des clones individuels, qui sont des groupes d'arbres produits à partir du système racinaire d'un seul arbre issu d'une graine, peuvent avoir des milliers d'années (Perala, 1990). Le peuplier faux-tremble atteint en moyenne 13-20 m de hauteur et son tronc, 20-25 cm de diamètre (Watson et coll., 1980), mais des sujets peuvent mesurer 30 m de hauteur et avoir un tronc de 60 cm de diamètre. Les racines sont très étalées – des drageons poussent parfois à 32 m des arbres parentaux (Watson et coll., 1980).

On peut cultiver des peupliers faux-trembles à partir de graines recueillies la même année, mais la durée de vie de ces graines est courte. Les graines devraient être conservées au réfrigérateur ou au congélateur (entre 2 °C et -40 °C); on en a déjà entreposé avec succès pendant deux ans (Harrington, 2010). Des taux de germination de 50 à >90 % ont été signalés (Watson et coll., 1980; Luna et coll., 2001; Moench, 2001). Les graines de peuplier faux-tremble sont non dormantes (en d'autres termes, aucune *stratification* n'est nécessaire à la *germination*) et commencent à germer dans les 24 h après le semis, mais elles ont besoin de lumière pour se développer (Luna et coll., 2001).

En laboratoire, la germination commence rapidement et atteint son maximum en 4 jours lorsque les graines sont semées à la surface du sol et que la *photopériode* est réglée à 16 h [M. Moody, Saskatchewan Research Council (SRC), Saskatoon (SK), comm. pers., 2011].

[2] Ces sols de référence étaient les suivants : podzol humo-ferrique gleyifié de Terre-Neuve, du Nouveau-Brunswick et de l'Ontario; luvisol gris foncé brunisol eutrique orthique et brunisol dystrique éluvié de la Saskatchewan; gleysol humique régosolique et chernozem gris foncé régosolique de l'Alberta.

Tableau 1. Caractéristiques des espèces végétales choisies

Espèce	Phylogénèse	Forme de croissance	Germination	Cycle biologique	Profondeur d'enracinement[a]	Type de sol de prédilection	Tolérance
Peuplier faux-tremble	Angiosperme, dicotylédone	Arbre, feuillu	Épigée	Pérenne	2 m	Vaste gamme de types de sols	pH du sol : 3,7->7,7[b]; faible tolérance à la sécheresse, à l'ombre, à l'eau stagnante, aux conditions anaérobies
Calamagrostide du Canada	Angiosperme, monocotylédone	Herbe, graminoïde	Hypogée	Pérenne	40 cm	Gamme de sols allant des sols humides de texture fine à grossière jusqu'à des sols mésiques; prolifère dans les sites perturbés et les milieux humides	pH du sol : 3,3[b]->7,7[b]; inondations, sécheresses et conditions salines; préfère les sols humides riches en nutriments
Verge d'or du Canada	Angiosperme, dicotylédone	Herbe, non graminéenne	Épigée	Pérenne	30 cm (minimum)	Vaste gamme de types de sols, texture fine à grossière	pH du sol : 5,0->7,7[b]
Bouleau à papier	Angiosperme, dicotylédone	Arbre, feuillu	Épigée	Pérenne	60 cm (minimum)	Vaste gamme de types de sols, texture fine à grossière	Sols acides; pH du sol : 3,3->7,5[b]; intolérance à l'ombre et à la salinité
Pin gris	Gymnosperme	Arbre, conifère	Épigée	Pérenne	50 cm (minimum)	Sols de texture fine à grossière	pH du sol : 3,3->7,8[b]; sites moins fertiles et plus secs
Épinette blanche	Gymnosperme	Arbre, conifère	Épigée	Pérenne	55-100 cm	Sols de texture fine à grossière	pH du sol : 3,2->7,5[b]; intolérance à la salinité
Épinette noire	Gymnosperme	Arbre, conifère	Épigée	Pérenne	40 cm (minimum)	Sols de texture fine à grossière	pH du sol : 3,2->7,6[b]; nécessite beaucoup d'humidité

[a] Profondeur des racines de plantes mûres dans la forêt boréale.
[b] Valeurs tirées d'essais en laboratoire sur des sols de référence (EC, 2013b).

On a obtenu un taux de germination de ≥80 % dans la plupart des essais sur un sol artificiel et un *sol de référence*, et un taux de 60-100 % dans tous les essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Les racines du peuplier faux-tremble étant fines et fibreuses, leur lavage exige un grand soin (Moody, comm. pers., 2012). Elles sont généralement au moins deux fois plus longues que les pousses (v. figure 5, section 4), mais leur poids sec est moindre (EC, 2013b). La croissance des pousses et des racines est réduite lorsque le pH du sol est bas (<3,7), comme c'est le cas des podzols échantillonnés en Ontario et à Terre-Neuve en tant que sols de référence (EC, 2013b). On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006), des métaux (Wren et coll., 2012) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012).

Les graines sont minuscules (0,5 mm × 1 mm) et on en compte entre $5{,}5 \times 10^6$ et 8×10^6 par kilogramme (Perala, 1990). Le peuplier faux-tremble est anémophile (pollinisé par le vent); il fleurit habituellement en avril ou en mai dans toute son aire de répartition (Perala, 1990). Au début, il croît rapidement : il atteint 15-30 cm la première année (à partir de la graine), puis 2 m la deuxième année. Sa hauteur augmente à un rythme soutenu pendant les 20 premières années.

On trouve des peupliers faux-trembles dans une grande variété de sites allant de bien drainés à mal drainés, de même que dans des sols aux *textures* très variables (Watson et coll., 1980). On a observé des sujets croissant dans des sols acides à Sudbury (ON) (pH 3,2-4,5), ce qui est en contradiction avec les ouvrages faisant état de sa faible tolérance à de tels sols (Watson et coll., 1980).

Le peuplier faux-tremble est l'essence (espèce d'arbre) nord-américaine la plus répandue : on le trouve de Terre-Neuve à l'Alaska en allant vers l'ouest; vers le sud, son aire s'étend jusqu'au nord du Mexique (dans l'ouest) et à la Virginie (dans l'est) (Howard, 1996). À l'échelle mondiale, seuls le tremble d'Europe (*Populus tremula*), qui est étroitement apparenté au peuplier faux-tremble et qui peut s'hybrider avec lui, et le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) ont des aires de répartition naturelles plus étendues. Après un incendie — la principale perturbation de la région de la forêt boréale de l'Ouest canadien —, le peuplier faux-tremble forme souvent des peuplements presque purs le long de la limite forestière méridionale. Certaines des tremblaies les plus exceptionnelles croissent sur des dépôts glaciaires riches en chaux, qui vont de la Saskatchewan et du Manitoba jusqu'à la portion septentrionale des États des Grands Lacs (Perala, 1990).

1.2.2 Calamagrostide du Canada /Calamagrostis canadensis *(Michx.) P. Beauv.*/

La calamagrostide du Canada, un membre de la famille des Graminées, est aussi appelée calamagrostis du Canada et foin bleu. Elle atteint une taille relativement haute pour une graminée, soit 50-110 cm, et ses limbes peuvent mesurer jusqu'à 10 mm de largeur et 40 cm de longueur. Les feuilles plates et souples sont *acuminées*; elles sont ridées et scabres (rugueuses) sur la face supérieure et lisses ou à peine scabres sur la face inférieure. Leur nervure médiane est proéminente. La plante est pourvue d'une longue *ligule* papyracée, mais il y a absence d'*oreillette* (Best et coll., 1971). L'*inflorescence* prend la forme d'une *panicule* ouverte atteignant jusqu'à 20 cm de longueur, chaque épillet portant une seule fleur (Rook, 1998). La floraison a lieu du mois de mai au mois d'août. Les Cris des bois employaient la calamagrostide du Canada pour le matelassage et comme revêtement de caveaux d'entreposage de pommes de terre (Université du Michigan, 2003). Cette plante ayant une faible teneur en protéines, on considère que sa valeur fourragère pour les ongulés de grande taille, les petits mammifères et la sauvagine va de passable à médiocre (Tesky, 1992).

La calamagrostide du Canada constitue une importante espèce *graminoïde* dans de nombreuses associations végétales à trembles et à peupliers baumiers (*Populus balsamifera*) de l'écorégion de transition boréale, mais elle est rare ou même absente dans les communautés arborescentes de l'écorégion de la tremblaie-parc, qui forme une transition entre la prairie et la forêt boréale (Thorpe et Godwin, 2008). Du point de vue de la foresterie, on considère que la calamagrostide du Canada nuit à la régénération des *conifères* de la forêt boréale

(Winder, 1999) et du tremble (Powell et Bork, 2004). L'espèce est également employée à des fins de végétalisation (Wynia, 2006).

La calamagrostide du Canada est une graminée de *saison fraîche* (C_3) (Emery et Gross, 2007), *pérenne* et *rhizomatoïde*, aux racines fibreuses peu profondes. Comme toutes les graminées, elle est *monocotylédone*. Espèce longévive, elle forme une fois établie des touffes très denses pouvant persister presque indéfiniment. Sa floraison est prolifique sur les sites perturbés et dans les milieux humides. Ses graines ont une durée de vie relativement courte, mais on a signalé qu'elles pouvaient être entreposées au froid et au sec pendant ≥2 ans et rester viables jusqu'à 5 ans dans le sol (Noller, 2001). Les taux de germination de graines de diverses origines et d'âges différents semblent varier de très bas à >95 %, et la germination peut prendre entre 3 et 14 jours (Tesky, 1992; Butler et Frieswyk, 2001; Noller, 2001; Tilley, 2010). La germination est *hypogée*. Les graines sont non dormantes, et on a signalé que la *scarification*, la *stratification* et l'exposition à la lumière n'ont pas d'effet positif sur les taux de germination (Wynia, 2006), mais une stratification à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide pendant 2-6 semaines a accru le taux global et la synchronisation de la germination (SRC, 2004).

En laboratoire, la levée commence rapidement et atteint son maximum en 7 jours lorsque les graines sont semées à la surface du sol et que la photopériode est réglée à 16 h (Moody, comm. pers., 2012). On a obtenu un taux de germination de ≥70 % dans la plupart des essais sur un sol artificiel et un sol de référence, et un taux de 60-100 % dans tous les essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Les graines mesurent 0,25 mm × 1 mm. Comme les racines de la calamagrostide du Canada sont fines et fibreuses, leur lavage exige un grand soin (Moody, comm. pers., 2011). Les racines sont pratiquement de la même longueur que les pousses (v. figure 6, section 4), mais leur poids sec est moindre (EC, 2013b). L'espèce tolère relativement bien les sols à pH 3,3, et on a constaté que la croissance des pousses et des racines était inférieure dans les podzols de référence échantillonnés en Ontario (pH 3,7) et à Terre-Neuve (pH 3,3), mais non dans ceux provenant du Nouveau-Brunswick (pH 4,1), de l'Alberta (AB01; pH 3,5) et de la Saskatchewan (SK03; pH3,7) (EC, 2013b). On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012).

La calamagrostide du Canada est un membre important de nombreux types d'associations végétales de la forêt boréale, allant des milieux humides aux sites forestiers humides des hautes-terres (sols au drainage imparfait à modérément bien drainés). L'espèce tolère les sols acides à pH 3,5 (Rook, 1998), de même que les conditions alcalines de sols à pH 8 (Wynia, 2006). La calamagrostide du Canada étant répandue dans les communautés forestières septentrionales, son nom (en anglais) entre dans le nom descriptif de 10 différents types d'associations végétales de la sous-région des contreforts inférieurs de l'Alberta (Lawrence et coll., 2005). L'espèce croît dans les milieux humides submergés au printemps et au début de l'été, mais trop secs pendant le reste de la saison estivale pour que des carex y prédominent. La calamagrostide du Canada abonde également dans plusieurs associations végétales où le peuplier faux-tremble, le peuplier baumier et le saule (*Salix* sp.) forment l'étage dominant. Elle est présente partout dans la forêt boréale, depuis l'Alaska jusqu'à Terre-Neuve; vers le nord, elle croît jusque dans la toundra, et vers le sud, on l'observe jusqu'en Californie et au Nouveau-Mexique, puis, en remontant en diagonale, jusqu'au Nebraska, en Ohio et au Delaware (Scoggan, 1978).

*1.2.3 Verge d'or du Canada (*Solidago canadensis *L.)*

La verge d'or du Canada, un membre de la famille des Astéracées, est une *dicotylédone* longévive *rhizomatoïde*, *pérenne* et herbacée; elle est indigène de l'Amérique du Nord et répandue sur tout le continent. Connue aussi sous les noms de gerbe d'or et de solidage du Canada, on la trouve naturellement partout au Canada, sauf au Nunavut (USDA-NRCS, 2010). La verge d'or du Canada croît et se répand rapidement à partir de *rhizomes*. Si elle atteint communément 1 m de hauteur, elle peut atteindre près de 2 m dans des conditions idéales (Coladonato, 1993). Sa tige unique de 5-10 cm de longueur porte des feuilles dentées *lancéolées*, disposées en spirale autour de la tige; l'inflorescence jaune, qui apparaît

à la fin de l'été, prend la forme d'une *panicule* pyramidale (Coladonato, 1993; Moss et Packer, 1994). Les fleurs croissent généralement sur la face supérieure des branches de la panicule. La moitié supérieure de la tige est pubescente (velue). On considère que les graines sont non dormantes et on a signalé un taux de germination de 50 % (Wynia, 2002). En laboratoire, la levée est généralement terminée en quatre jours dans un *sol artificiel* (v. tableau 2) et variait de 60 à 100 % dans des essais sur des sols artificiels et de référence (EC, 2013b). La verge d'or du Canada croît dans des sols de texture grossière à fine dont le pH se situe entre 5 et 7,7. Toutefois, dans des essais de laboratoire sur plusieurs sols de référence (pH 5,8-7,7), on a observé une variation des paramètres relatifs au taux de levée et à la croissance, de sorte qu'il est difficile de recommander des pH que l'espèce peut tolérer (EC, 2013b). La croissance des pousses et des racines est réduite dans des sols à pH bas (≤4), comme c'est le cas des podzols échantillonnés en Saskatchewan (SK03), en Ontario et à Terre-Neuve comme sols de référence, de même que du sol de référence prélevé en Alberta (AB01) (EC, 2013b). Les graines ne nécessitent aucun traitement avant le semis (Wick et coll., 2008), mais Wynia (2002) avance que la *stratification* pourrait améliorer le taux de germination. Une stratification à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide pendant 3-12 semaines a accru le taux et la synchronisation de la germination (SRC, 2004). La viabilité des graines est généralement très faible – van der Grinten (2002) signale que seulement 12 % des graines étaient vivantes dans les lots prélevés. Par contre, pendant la mise au point de la méthode, on a obtenu une levée moyenne de 82 % (plage de 60-100 %) dans tous les essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Les graines mesurent 0,25 mm × 1 mm. Les racines de la verge d'or du Canada sont fines et fibreuses (v. figure 7, section 4) et on peut s'attendre à ce qu'elles soient notablement plus longues que les pousses dans la plupart des sols (EC, 2013b). On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006), des métaux (Wren et coll., 2012) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012).

Par le passé, diverses tribus autochtones de l'Amérique du Nord employaient la verge d'or du Canada à des fins médicinales (Université du Michigan, 2003; USGS, 2006). La plante présente une faible palatabilité pour les animaux brouteurs, et son ratio élevé carbone-azote dénote une valeur nutritive relativement faible (Coladonato, 1993; USDA-NRCS, 2010). Par contre, le cerf de Virginie broute cette espèce après l'apparition de l'*inflorescence* (Coladonato, 1993).

La verge d'or du Canada est naturellement présente dans la portion continentale des États-Unis, sauf dans les États de l'extrême sud-est (USDA-NRCS, 2010). Même si elle est très prisée comme plante ornementale en Europe, on la considère maintenant comme une espèce envahissante à l'extérieur de l'Amérique du Nord (Frankton et Mulligan, 1970; Université du Michigan, 2003). L'espèce était déjà répandue en Europe au XVII[e] siècle; plus récemment, elle a gagné l'Asie, notamment la Chine, et elle est devenue une espèce problématique. Il semble que la plante ait des effets *allélopathiques*, d'où son pouvoir envahissant (Sun et coll., 2006). La verge d'or du Canada n'a pas de valeur économique, mais elle peut être une source notable de nectar pour l'abeille domestique. Elle occupe une grande variété d'habitats allant de la forêt à la prairie humide; souvent, elle devient abondante dans des habitats perturbés, comme les terres dont les forêts sont brûlées. On l'observe le plus souvent dans des sites humides mais non ennoyés, et elle peut tolérer une vaste gamme de sols à la *fertilité* variable. Elle croît habituellement dans les espaces découverts et ne tolère pas l'ombre.

*1.2.4 Bouleau à papier (*Betula papyrifera *Marsh.)*

Le bouleau à papier est aussi appelé bouleau blanc et bouleau à canot. Il est également désigné sous d'autres synonymes scientifiques : *Betula cordifolia* Regel, *B. neoalaskana* Sarg., *B. neoalaskana* var. *kenaica* (W.H. Evans) Boivin, *B. alaskana* Sarg., et *B. papyrifera* var. *humilis* (Reg.) Fern. & Raup. Dans *La flore du Canada*, Scoggan (1978) distingue cinq variétés de l'espèce, tandis que dans *Flora of North America* (2009a), certaines de ces variétés ont le statut d'espèces. Le bouleau à papier est un membre de la famille des Bétulacées, qui englobe notamment les aulnes (*Alnus* spp.) et les noisetiers

(*Corylus* spp.). Le bouleau s'hybride facilement, ce qui cause souvent des difficultés dans l'identification de spécimens individuels (Flora of North America, 2009a).

Le bouleau à papier est un *feuillu* à tige unique ou multiple portant des feuilles alternées simples, dentées ou *bidentées*, de 4-7 cm de longueur. Chez les arbres mûrs, l'écorce, généralement blanche, se détache facilement en bandes. Le bouleau à papier atteint souvent 21-24 m de hauteur et son tronc, 25-30 cm de diamètre; toutefois, il peut croître jusqu'à 30 m de hauteur, tandis que son tronc peut mesurer jusqu'à 75 cm de diamètre. Les fleurs apétales prennent la forme de *chatons* penduleux unisexués, regroupés par paires sur des pousses courtes. Des fleurs mâles et femelles croissent sur le même arbre. Le bois du bouleau à papier sert à la fabrication de meubles, de revêtements de sol, de placage, de contreplaqué et de panneaux à copeaux orientés, de pâte à papier, de pinces à linge et de bobines, en plus de constituer un bois de chauffage de qualité (Viereck et Little, 1972; Uchytil, 1991a; Flora of North America, 2009a). On a déjà employé la sève pour en faire un sirop, tandis que l'écorce a déjà servi à fabriquer des paniers, des contenants d'entreposage, des paillassons, des porte-bébés, des raquettes et le célèbre canot d'écorce (Uchytil, 1991a; Université du Michigan, 2003; Flora of North America, 2009a). Les peuples autochtones de l'Amérique du Nord utilisaient le bouleau à papier à diverses fins médicinales (Université du Michigan, 2003). En hiver, cette essence constitue une importante source de nourriture pour de nombreuses espèces d'ongulés de grande taille, de petits mammifères et d'oiseaux.

Le bouleau à papier vit généralement moins de 140 ans, mais des sujets peuvent parfois avoir plus de 200 ans (Thorpe et Godwin, 1992; Ancient Forest Exploration and Research, sans date). Cette essence ne tolère pas l'ombre. La viabilité des graines semble varier d'année en année : on a observé un taux de germination de 77 % pendant une très bonne année semencière et de seulement 13 % pendant une année normale (Bjorkbom, 1971). La période d'*ensemencement naturel* est à son plus fort entre septembre et novembre (Bjorkbom, 1971). Dans une zone d'étude située dans le Maine, on a estimé l'ensemencement naturel à ~1-10 × 10^6 graines par acre (1 acre = 4,05 hectares) (Bjorkbom, 1971), mais on a aussi signalé une production atteignant jusqu'à 36 × 10^6 graines par acre au cours de très bonnes années semencières (Marquis, 1969). La floraison commence en avril dans la portion méridionale de l'aire de répartition du bouleau à papier, mais seulement en juin en Alaska. Un sol minéral perturbé constitue un milieu idéal pour la germination des graines au printemps, alors que des sols à pH <5,0 empêchent les plantules de croître. Près de Sudbury (ON), on a toutefois observé des sujets croissant dans des sols acides (pH aussi bas que 3,2) (Watson et coll., 1980), ce qui a également été constaté au cours d'essais de laboratoire sur les échantillons de tous les podzols à bas pH (<4) (EC, 2013b). Selon Bjorkbom (1971), la viabilité des graines a varié de 49 à 65 % au cours de 3 années différentes de production semencière, alors que Watson et coll. (1980) signalent qu'elle peut varier de 15 à 20 %. En laboratoire, la levée des graines allait de 60 à 100 % dans des essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Les graines mesurent 2 mm × 2,5 mm; elles peuvent être entreposés ≤2 ans à la température ambiante et ≤10 ans au congélateur (Watson et coll., 1980). Les plantules peuvent atteindre 5-12 cm de hauteur la première année. La *stratification* des graines est inutile si la germination a lieu en présence de lumière, mais Watson et coll. (1980) recommandent une stratification à 5 °C pendant 60-70 jours. Lors des essais connexes à la mise au point de la méthode, on a constaté qu'une stratification à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide pendant 4 semaines améliorait la germination en présence de lumière (SRC, 2004, 2012). La flottation des graines dans l'éthanol, suivie d'un tri à la main à l'aide d'un microscope illuminé par le dessous, a aussi amélioré le taux de levée (SRC, 2012; EC, 2013b). Le taux de germination des graines non stratifiées est plus élevé en présence de lumière que dans l'obscurité, mais celui des graines stratifiées est le même dans les deux cas (Bevington et Hoyle, 1981). Le bouleau à papier est une plante *dicotylédone*. Après un incendie, il y a reproduction asexuée à partir des rejets des souches ou des collets. On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (Moody, comm. pers., 2011). Au cours d'essais de croissance de cinq semaines en laboratoire, les racines étaient plus longues que les pousses, mais le

poids sec de ces dernières était supérieur à celui des racines (EC, 2013b). La couleur des feuilles varie normalement du vert au rouge, selon les conditions du sol et de luminosité (v. figure 8, section 4).

Le bouleau à papier croît partout dans la forêt boréale de l'Amérique du Nord (de l'Alaska à Terre-Neuve); vers le sud, son aire de répartition englobe l'Oregon, le Wyoming, l'Iowa et la Pennsylvanie (Viereck et Little, 1972; USDI, 2006). Le bouleau à papier est employé pour la remise en état et la stabilisation de sites très perturbés, et il fait partie des premières essences à coloniser des lieux perturbés, y compris les sites brûlés (Uchytil, 1991a). C'est une des *espèces de transition* des stades initiaux de *succession*, qui donne un taux très élevé d'ensemencement après un incendie de forêt, avant son remplacement graduel par des *conifères* dans la plus grande partie de la forêt boréale. Au Labrador, les peuplements de bouleaux commencent à dégénérer à l'âge de 75-100 ans, et les conifères deviennent des essences dominantes en 125 ans dans la forêt boréale mixte.

*1.2.5 Pin gris (*Pinus banksiana *Lamb.)*

Le pin gris, un membre de la famille des Pinacées, est aussi appelé pin de Banks, pin divariqué et pin chétif, parfois même cyprès. C'est un *conifère* (*gymnosperme*) de taille moyenne, aux aiguilles jaune-vert (2-3,75 cm de longueur) réunies par paires plutôt que simples, comme chez les épinettes (*Picea* spp.) et autres conifères [excluant les pins (*Pinus* spp.)] à feuillage persistant indigènes du Canada (Flora of North America, 2009b; Université Lakehead, 2009). La germination du pin gris est *épigée*. Parmi les divers usages de cette essence, on compte le bois à pâte, le bois d'œuvre, les poteaux (de téléphone et de clôture) et les traverses de chemin de fer, et on cultive le pin gris comme arbre de Noël (Carey, 1993). Les peuples autochtones de l'Amérique du Nord se servaient du pin gris à des fins médicinales, et ils utilisaient sa sève comme calfeutrage et pour leurs torches, les racines pour coudre l'écorce des canots, les rameaux pour le matelassage et la fumée des cônes qu'ils faisaient brûler pour le tannage (Université du Michigan, 2003). Le pin gris constitue une source d'aliments pour de nombreuses espèces de rongeurs de petite taille, le cerf de Virginie, le caribou et le lièvre d'Amérique (Carey, 1993). Il peut atteindre 27 m de hauteur et son tronc, 60 cm de diamètre. Les plantules atteignent ~5 cm de hauteur la première année et 8-15 cm après 2 saisons de croissance, avec des racines de 28-33 cm de profondeur (Rudolph et Laidly, 1990). Les arbres en croissance libre sont souvent tordus, mais ils sont droits dans les peuplements denses (Flora of North America, 2009b). L'écorce, d'abord écailleuse, devient marquée de sillons à mesure que l'arbre vieillit. Les cônes femelles sont recourbés vers le haut le long des branches. Ils s'ouvrent généralement après plusieurs années ou par suite d'un incendie. L'aire de répartition du pin gris chevauche celle du pin tordu (*Pinus contorta*) en Alberta et en Colombie-Britannique, et il y a hybridation entre les deux essences (Rudolph et Laidly, 1990; Carey, 1993). Le pin gris est *monoïque*.

La température optimale de germination du pin gris est de 25-30 °C (Qualtiere, 2008). La stratification a réduit le taux de germination de certains lots de graines exposés à la lumière (Qualtiere, 2008), et ce taux était également réduit en l'absence de lumière (Rudolph et Laidly, 1990). Dans 10 lots de graines de pin gris de la Saskatchewan, on comptait des graines non dormantes et jusqu'à 34 % de graines dormantes (Qualtiere, 2008). On a signalé que la viabilité des graines était élevée, soit 78-89 % dans le cas de cônes âgés de 1-6 ans et 50 % dans celui de cônes âgés de 20 ans (Carey, 1993). En laboratoire, la levée des graines allait de 60 à 100 % dans des essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Les graines mesurent 2 mm × 3,5 mm. Après une stratification de ≥2 semaines à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide, on peut s'attendre, dans des essais en laboratoire, à une levée complète des graines ~10 jours après le semis (SRC, 2006). Pendant leur croissance, les jeunes plantules produisent un pivot robuste (v. figure 9, section 4) ~2-3 fois plus long que la tige aérienne (EC, 2013b), la croissance de celle-ci se manifestant davantage par le nombre de feuilles que par son allongement (Moody, comm. pers., 2011). On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012). En laboratoire, le pin gris tolère des sols dont le pH va de 3,3 à 7,8 (EC, 2013b).

On a constaté que la hauteur des pins gris du même âge était similaire dans l'ouest du Québec et en Saskatchewan. Les arbres atteignent 1,3 m en 6-8 ans, 6 m en 20 ans et 16 m en 60 ans (Kabzems et Kirby, 1956). Du point de vue de la foresterie, le pin gris est mûr à 70-80 ans (Kabzems et Kirby, 1956) – dans la région boréale, il compte parmi les conifères les moins longévifs. Un spécimen de 246 ans trouvé en Ontario (Earle, 2009b) pourrait être le plus vieux pin gris qui ait été documenté. Le pivot du pin gris peut atteindre une profondeur de 13-25 cm la première saison de croissance (Rudolph et Laidly, 1990). Les arbres peuvent commencer à produire des graines à l'âge de 5-10 ans (Carey, 1993). Dans des sols bien drainés, les racines peuvent pénétrer à 2,7 m de profondeur, mais la plus grande partie du système racinaire se trouve à quelque 50 cm sous la surface du sol (Rudolph et Laidly, 1990).

Le plus souvent, le pin gris croît dans des sols sableux secs et acides, mais il pousse aussi dans des sols loameux minces sus-jacents à l'assise rocheuse, dans les tourbières et dans les sols recouvrant le pergélisol (Carey, 1993). Par rapport aux autres espèces d'arbre partageant la même aire de répartition, il croît généralement dans les sites moins fertiles et plus secs.

De tous les pins, c'est le pin gris qui est le moins tolérant à l'ombre, et il l'est à peine plus que le tremble, le bouleau et le mélèze laricin (*Larix laricina*). Il colonise rapidement des sites brûlés et forme des peuplements équiennes. Les cônes *sérotineux* s'ouvrent en réaction à la chaleur des incendies et dispersent leurs graines peu après. C'est seulement dans la partie la plus méridionale de l'aire de répartition du pin gris que les cônes ne sont pas sérotineux. La germination (*épigée*) des graines est optimale dans des sols minéraux – elle a lieu dans les 15-60 jours lorsque les conditions sont favorables. La plupart des plantules meurent si l'épaisseur de la couche de sol organique est de >1,3 cm (Rudolph et Laidly, 1990), et un humus de <0,5 cm d'épaisseur constitue le meilleur lit de semences (Carey, 1993). D'autres essences remplacent souvent le pin gris avec le temps, mais il peut rester l'essence dominante sur les sites très secs, comme des sables profonds.

On trouve des pins gris dans la forêt boréale s'étendant de la partie occidentale des Territoires du Nord-Ouest jusque dans la partie orientale du Québec, au Nouveau-Brunswick, en Nouvelle-Écosse et à l'Île-du-Prince-Édouard, mais ils sont absents à Terre-Neuve-et-Labrador. L'extrémité hyperborée de l'aire de répartition de cette essence ne dépasse pas la limite forestière le long de la bordure septentrionale de la forêt boréale, ni la baie d'Hudson dans l'est du pays. Vers le sud, l'aire de répartition englobe le Minnesota, le Wisconsin, le Michigan, le nord de l'Illinois et le Maine (Flora of North America, 2009b).

1.2.6 Épinette blanche [Picea glauca (Moench) Voss]

Tout comme le pin gris, l'épinette blanche est un membre de la famille des Pinacées; on l'appelle aussi sapinette blanche et épicéa glauque. C'est un conifère (gymnosperme) à germination *épigée*. L'épinette blanche est une importante source de bois à pâte et de bois d'œuvre, mais on s'en sert aussi pour la construction de maisons en bois rond et la fabrication d'instruments de musique, de pagaies et de boîtes. De nombreux groupes autochtones utilisaient l'épinette blanche à des fins médicinales et alimentaires (dont des boissons), pour construire des habitations et des canots, pour fabriquer des paniers et des raquettes et pour le matelassage (Université du Michigan, 2003). Cette essence dominante de la forêt boréale est une importante source de nourriture pour de nombreuses espèces sauvages, notamment des mammifères, des oiseaux et des invertébrés, en plus de leur fournir un habitat vital (Zasada et coll, 1978; Nienstaedt et Zasada, 1990). Sur des sites propices, l'épinette blanche peut atteindre une hauteur de 40 m et son tronc, jusqu'à 120 cm de diamètre (Watson et coll., 1980). Dans la portion méridionale de la forêt boréale de l'intérieur du continent, l'épinette blanche croissant sur des sites adéquats atteint en moyenne ~27 m de hauteur à l'âge de 100 ans, mais on trouve aussi sur les mêmes sites des spécimens de 190 ans ne dépassant pas 31 m de hauteur (Kabzems, 1971). Sur les sites peu fertiles, les arbres centenaires ont moins de 20 m de hauteur. Les feuilles (aiguilles) sont vertes, quadrangulaires, rigides et acuminées; elles mesurent 8-18 mm de longueur (Hosie, 1978). La plupart du temps, les racines de l'épinette blanche sont peu profondes (90-120 cm) du fait que les conditions pédologiques limitent leur pénétration,

mais le pivot peut s'enfoncer jusqu'à 3 m dans le sol. On trouve souvent de grosses racines à moins de 15 cm de la limite entre le sol organique et le sol minéral (Nienstaedt et Zasada, 1990).

L'épinette blanche croît dans une grande diversité de sols et de types de sites — dépôts glaciaires, *lacustres*, marins ou *alluviaux* de texture sableuse à argileuse —, mais elle est d'importance mineure dans les sols sableux. L'essence est de la meilleure venue dans les sols modérément à bien drainés et dans les sols *alluviaux* humides bordant les ruisseaux (Nienstaedt et Zasada, 1990). Dans la portion nord-ouest de son aire de répartition (territoires canadiens et Alaska), l'épinette blanche est surtout restreinte aux plaines inondables et aux hautes-terres exposées au sud. Elle croît dans des sols tant acides qu'alcalins, mais des sols dont le pH va de 4,7 à ≥7 sont idéaux (Nienstaedt et Zasada, 1990). En laboratoire, l'épinette blanche tolère des sols dont le pH va de 3,2 à 7,5 (EC, 2013b). On observe une forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006), des métaux (Wren et coll., 2012) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012). Dans les essais de laboratoire, la germination de l'épinette blanche commence lentement et atteint son maximum dans les 18 jours pour un ensemencement à 3 mm de profondeur (SRC, 2006). On a obtenu un taux de germination de ≥80 % dans la plupart des essais sur un sol artificiel et un sol de référence, et un taux de 60-96 % dans tous les essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Pendant leur croissance, les jeunes plantules produisent un pivot robuste (v. figure 10, section 4) ~2 fois plus long que la tige aérienne (EC, 2013b), la croissance de celle-ci se manifestant davantage par le nombre de feuilles que par son allongement (Moody, comm. pers., 2011).

Des cônes mâles et femelles croissent sur le même arbre. La pollinisation a lieu de mai à juillet, selon le lieu géographique et les conditions météorologiques annuelles; toutefois, d'une année à une autre, il peut y avoir un décalage de 4 semaines au même endroit (Nienstaedt et Zasada, 1990). L'embryon est complètement développé en août – ce développement est maximal après 635 *degrés-jours de croissance*, la température de seuil étant de 5 °C en Alaska (Zasada et coll., 1978). Les cônes atteignent leur maturité en août ou en septembre. Les graines, qui mesurent 1,5 mm × 3 mm, peuvent être recueillies dans les 2-4 semaines précédant leur mûrissement; leur qualité s'améliore si elles sont entreposées au froid (4-10 °C) dans un endroit aéré. À l'âge de 30 ans, les arbres produisent de grandes quantités de graines. Entre 2 et 12 ans peuvent séparer les bonnes années semencières, celles-ci étant suivies de mauvaises années. La plus grande partie de la dispersion des graines a lieu par temps sec, en septembre. Une température se situant entre 10 et 24 °C est optimale pour la germination, celle-ci étant très réduite à ≤10 °C. La *stratification* à 2-4 °C est recommandée aux fins des essais, mais elle n'est pas une condition préalable à la germination (*épigée*). Une stratification à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide pendant ≥3 semaines a accru le taux global et la synchronisation de la germination dans des essais en laboratoire (SRC, 2004). Les graines peuvent être entreposées sans problème pendant ≤10 ans au froid et ≤2 ans à la température ambiante (Watson et coll., 1980). Les horizons *L* et *F* des sols forestiers de >5-8 cm d'épaisseur limitent la régénération, plus particulièrement dans l'ouest de l'Amérique du Nord, où le climat est plus sec dans l'ensemble. On compte quelque 500 000 graines par kilogramme (Watson et coll., 1980).

Les températures diurnes/nocturnes optimales pour la croissance des plantules sont de 25 °C/20 °C, à 400 lm/m^2 (Kabzems, 1971). Toutefois, il y a interaction entre l'éclairage et la température : un éclairage plus faible exige la modification de la température pour que la croissance soit maximale.

On trouve les arbres vivants les plus âgés aux limites climatiques froides de l'aire de répartition de l'essence, tant en latitude qu'en altitude. Un arbre du delta du Mackenzie comptait 589 cernes, et on a observé des arbres de près de 1000 ans au-dessus du cercle polaire arctique (Niestaedt et Zasada, 1990). En règle générale, des arbres pouvant atteindre 250 ans sont fréquents sur les sites propices.

Au Canada, l'épinette blanche est présente dans toutes les provinces (seule la région côtière de la Colombie-Britannique fait exception) et tous les territoires, et elle croît jusqu'à la limite forestière en bordure de la toundra (Kabzems, 1971). Vers le sud,

son aire de répartition englobe le Minnesota, le Wisconsin, le Michigan, l'État de New York et le Maine dans l'Est, de même que des hautes-terres isolées dans l'Ouest, notamment les collines du Cyprès (Saskatchewan), les Black Hills (Wyoming et Dakota du Sud) et les montagnes Rocheuses (Montana) (Nienstaedt et Zasada, 1990).

1.2.7 Épinette noire [Picea mariana *(Mill.) Britton, Sterns & Poggenb.]*

L'épinette noire, un autre membre de la famille des Pinacées, est aussi appelée épinette à bière, sapinette noire et épicéa marial. C'est un *conifère* (gymnosperme) souvent de petite taille, à germination *épigée* et à houppier étroit. Le groupement dense des branches dans la partie supérieure du houppier, un trait caractéristique de l'épinette noire, confère à l'arbre sa silhouette claviforme. Les aiguilles sont courtes (~12 mm) et quadrangulaires. Lorsqu'elle s'écaille, l'écorce gris-brun laisse entrevoir une sous-écorce de teinte jaunâtre. L'épinette noire, en plus de donner une pâte de grande qualité, est utilisée comme bois d'œuvre et arbre de Noël (Viereck et Johnston, 1990). Tout comme l'épinette blanche, l'épinette noire avait de nombreux usages chez les peuples autochtones du Nord. Les peuplements d'épinettes constituent un important habitat de reproduction pour de nombreuses espèces d'oiseaux chanteurs boréaux. Beaucoup d'espèces d'oiseaux et de rongeurs se nourrissent de graines d'épinette noire, tandis que les aiguilles, l'écorce et les rameaux de l'espèce forment une bonne partie de l'alimentation du lièvre d'Amérique en hiver (Viereck et Johnston, 1990; Rook, 2002).

L'âge maximal moyen de l'épinette noire est de 200 ans, mais certains spécimens peuvent atteindre 280 ans (Viereck et Johnston, 1990). D'une hauteur moyenne de 12-20 m sur des sites propices, l'épinette noire mûre peut croître jusqu'à 27 m de hauteur dans la zone argileuse de l'Ontario. Les racines se concentrent dans les 20 cm supérieurs des *horizons* organiques. À la limite septentrionale de son aire de répartition, l'épinette noire peut atteindre une hauteur de 3-6 m à l'âge de 100-200 ans (Uchytil, 1991b). Elle est tolérante à l'ombre. C'est une essence pionnière : après un incendie, elle produit très tôt des graines dont la dispersion est stimulée par l'exposition des cônes au feu (Uchytil, 1991b).

L'épinette noire croît le plus souvent dans des sols organiques de la portion méridionale de la forêt boréale, de même que dans le Nord. Elle abonde aussi dans les hautes-terres de la région boréale septentrionale, dans des sols minces sus-jacents à l'assise rocheuse et dans les sols sableux à argileux. Elle est mieux adaptée aux sols du pergélisol que les autres essences du fait que ses racines sont peu profondes. L'épinette noire forme souvent des peuplements purs dans les sols organiques; dans les sols minéraux, on la trouve dans des peuplements mixtes constitués d'autres conifères et même de feuillus. Les sites bien drainés portent les peuplements les plus productifs (Viereck et Johnston, 1990).

La température optimale de germination de l'épinette noire est de 20-25 °C (Qualtiere, 2008). Après avoir mis à l'essai 12 provenances de graines d'épinette noire de la Saskatchewan, Qualtiere (2008) a constaté que la *stratification* n'améliorait pas le taux de germination, ce qui est à l'opposé des conclusions de Baskin et Baskin (2002), qui ont eu recours à la stratification en milieu froid et humide pendant 24 jours et à des températures diurnes/nocturnes de 20 C°/10 °C pendant la germination. Une stratification à 4 ± 2 °C dans de la tourbe humide pendant ≥3 semaines a accru le taux global et la synchronisation de la germination dans des essais en laboratoire (SRC, 2004). L'éclairage ne semble pas avoir eu d'incidence sur le taux de germination; toutefois, à basse température (soit 10 °C), il fallait une longue photopériode (22 h) pour qu'il y ait germination (Qualtiere, 2008). Dans l'étude de Qualtiere, les taux de germination allaient de 70 à 100 % pour toutes les provenances, alors que dans celle d'Uchytil (1991b), la viabilité des graines âgées de 1-5 ans, recueillies dans le nord-est de l'Ontario, n'était que de 53 %. Le taux de germination des graines entreposées reste élevé pendant 12 ans, puis il chute rapidement (Viereck et Johnston, 1990). Parmi toutes les essences d'épinettes nord-américaines, c'est l'épinette noire qui porte les plus petites graines (1,5 mm × 2,5 mm). Les plantules croissent lentement, atteignant près de 2,5 cm la première année (Uchytil, 1991b).

En laboratoire, l'épinette noire tolère des sols dont le pH va de 3,2 à 7,6 (EC, 2013b). On observe une

forte relation concentration-réponse dans le cas de l'acide borique (SRC, 2006), des métaux (Wren et coll., 2012) ainsi que des hydrocarbures pétroliers météorisés et des sels (Princz et coll., 2012). Dans les essais de laboratoire, la germination de l'épinette noire commence lentement et atteint son maximum dans les 16 jours pour un ensemencement à 3 mm de profondeur (SRC, 2006). On a obtenu un taux de germination de ≥80 % dans la plupart des essais sur un sol artificiel et un sol de référence, et un taux de 60-100 % dans tous les essais satisfaisant aux critères de validité (EC, 2013b). Pendant leur croissance, les jeunes plantules produisent un pivot robuste (v. figure 11, section 4) ~2 fois plus long que la tige aérienne (EC, 2013b), la croissance de celle-ci se manifestant davantage par le nombre de feuilles que par son allongement (Moody, comm. pers., 2011).

L'aire de répartition de l'épinette noire va de la côte ouest de l'Alaska jusqu'à la côte nord du Labrador et touche la limite forestière sur une bonne partie du continent. Vers le sud, elle englobe le centre de la Colombie-Britannique, de l'Alberta et de la Saskatchewan, le sud du Manitoba, le Minnesota, le Wisconsin, le Michigan, la Pennsylvanie et le nord du New Jersey (Viereck et Johnston, 1990).

1.3 Historique de l'utilisation de plantes de la région boréale dans les essais toxicologiques

L'historique de la mise au point de méthodes d'essai biologique visant à mesurer la toxicité d'échantillons de sol, de même que de l'utilisation d'échantillons de sol entier pour caractériser les effets de divers *toxiques* sur des plantes, est décrit en détail dans EC (2005a).

Les plantes sont largement utilisées dans les essais de toxicité monospécifiques pour mesurer la toxicité de substances chimiques pures, de *produits* chimiques ou d'échantillons de sol contaminé ou susceptible d'être contaminé par des substances chimiques, que ce soit sur le terrain ou (à des fins expérimentales) en laboratoire. Au Canada, les résultats des *essais toxicologiques* sur des sols servent aux fins suivantes :

1) établir des critères nationaux de qualité des sols;
2) fixer des objectifs d'*assainissement* pour un *site* donné, fondés sur le *risque* (p. ex., objectifs d'*assainissement*);
3) évaluer l'efficacité des techniques d'assainissement (Stephenson et coll., 2002).

Des études exhaustives ont porté sur le recours à des essais toxicologiques avec des plantes en tant qu'« outil d'évaluation écologique » de la toxicité de sols contaminés ou susceptibles d'être contaminés (Wang, 1991, 1992; Wang et Freemark, 1995; Kaputska, 1997; Meier et coll., 1997; Saterbak et coll., 1999). Il a parfois fallu modifier des méthodes normalisées ou en mettre au point tout spécialement afin de recueillir des données pertinentes (Pfleeger et coll., 1991; Sheppard, 1994; Chaineau et coll., 1997). En outre, des examens de bases de données ont été résumés dans des rapports consacrés à l'étude de la façon dont diverses espèces végétales réagissent à différents contaminants (Kenaga, 1981; Miller et coll., 1985; Boutin et Rogers, 2000). Les effets *toxiques* de l'exposition de plantes à des sols contaminés ont été documentés dans des études de laboratoire réalisées sur des échantillons de sol (enrichis ou non) renfermant :

- des pesticides (Fletcher et coll., 1995, 1996; Boutin et coll., 2000, 2004);
- des métaux (Godbold et Hüttermann, 1985; Kaputska et coll., 1995; Kjaer et Elmegaard, 1996; Rader et coll., 1997; Kjaer et coll., 1998; Redente et coll., 2002; Lock et Janssen, 2003; Feisthauer et coll., 2006; Menzie et coll., 2008; Sheppard et Stephenson, 2012);
- des hydrocarbures pétroliers (Chaineau et coll., 1997; Wong et coll., 1999; Cermak et coll., 2010 ; Angell et coll., 2012);
- d'autres substances chimiques (Siciliano et coll., 1997; Kalsch et Römbke, 1999; Velicogna et coll., 2012).

Différents organismes (USEPA, 1989; EC, 2005a; OCDE, 2006a; ASTM, 2009; ISO, 2012a, 2012b) ont recommandé diverses espèces végétales pour les essais de *phytotoxicité*. L'avoine, la carotte, le chou,

le concombre, l'ivraie vivace, la laitue, le maïs, le riz, le soja et la tomate font partie des espèces expérimentales recommandées le plus souvent par ces organismes. Fletcher et coll. (1985, 1988) ont examiné la base de données PHYTOTOX et compilé les espèces végétales terrestres les plus utilisées dans les essais. Ainsi, l'avoine, le blé, le haricot, le maïs, l'orge, la pomme, le pois, le soja et la tomate sont les espèces les plus pertinentes dans le cas des sols et régions arables. Toutefois, au Canada, la forêt boréale couvre >50 % du territoire et englobe des milliers de *sites* susceptibles de subir les effets des industries forestière, minière, pétrolière et gazière, de même que de la production d'électricité (CCME, 2008). Les cadres pour l'*évaluation du risque écologique*, mis au point par le gouvernement fédéral (CCME, 1994, 1996, 1997) et l'Alberta (MEA, 2007a, 2007b, 2007c), se fondent souvent sur les résultats d'essais toxicologiques monospécifiques pour les évaluations de niveau plus élevé. En conséquence, les *batteries d'essais* avec des espèces végétales indigènes des écozones de la région boréale du Canada constituent un appui aux évaluations écologiques et réalistes du risque pour des sites donnés, de même qu'aux programmes d'*assainissement* (Princz et coll., 2012).

Diverses études ont porté sur les effets de la salinité du sol sur des plantes de la région boréale afin d'étayer l'assainissement de lieux contaminés par des sels (Hettinger, 1982; Howat, 2000), en particulier dans les zones d'exploitation des sables bitumineux (Renault et coll., 2000; Croser et coll., 2001; Redfield, 2001; Franklin et coll., 2002, Khasa et coll., 2004). On assiste de plus en plus à la mise au point et à l'exécution d'essais toxicologiques avec des espèces non agricoles, y compris des espèces de la région boréale, étant donné que le risque associé à l'exposition à des pesticides est maintenant reconnu (White et coll., 2009).

Au cours d'essais de phytotoxicité, on a fait appel à des espèces non visées et à des espèces sauvages pour mesurer des aspects de la variation de facteurs écotypiques et abiotiques, par exemple (Boutin et coll., 2010), de même que les effets de pesticides (Dalton et Boutin, 2010). Trois espèces ligneuses de la région boréale incluses dans la présente méthode d'essai normalisée (peuplier faux-tremble, pin gris, épinette blanche) ont affiché une variation génétique de la tolérance aux sels (Khasa et coll., 2002).

La méthode d'essai biologique mise au point par Environnement Canada pour mesurer les effets *toxiques* d'une exposition prolongée à un *sol enrichi avec une substance chimique* ou à un *sol de site* sur la levée et la croissance de plantes terrestres (SPE 1/RM/45, EC, 2005a) a servi de fondement à la présente méthode faisant appel à des plantes de la région boréale. Des modifications ont dû être apportées à la méthode SPE 1/RM/45 du fait, notamment, que les graines sauvages doivent être stratifiées, que les essais durent plus longtemps et qu'ils portent sur des horizons de sols. Le paramètre de *levée* n'a pas été retenu à cause de son absence de sensibilité par rapport au paramètre de *croissance*.

Organismes expérimentaux

2.1 Espèces

Les organismes expérimentaux à utiliser dans la présente méthode d'essai biologique doivent être choisis parmi les sept espèces de plantes de la région boréale listées ci-dessous. Les espèces acceptables incluent trois *angiospermes dicotylédones*, une *angiosperme monocotylédone* et trois *gymnospermes* :

angiospermes dicotylédones

- peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*)
- verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*)
- bouleau à papier (*Betula papyrifera*)

angiosperme monocotylédone

- calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*)

gymnospermes

- pin gris (*Pinus banksiana*)
- épinette blanche (*Picea glauca*)
- épinette noire (*Picea mariana*)

Le choix d'espèces multiples devrait être fondé sur la sensibilité de chacune à la substance ou matière d'essai et au pH du *sol d'essai*, si on dispose de l'information voulue. Le nombre et le type d'espèces choisies aux fins d'études exhaustives (c.-à-d. effets multispécifiques) dépendent de l'objet de l'étude et des exigences réglementaires en vertu desquelles les essais sont réalisés. L'importance que revêt la pertinence écologique de l'espèce ou des espèces choisies varie selon les objectifs de l'étude[3]. On trouvera en 1.2 un résumé de l'importance écologique, économique et physiologique des sept espèces de plantes à utiliser dans la présente méthode d'essai biologique.

On doit démarrer l'essai avec des *graines* sauvages (c.-à-d. des graines qui n'ont pas été choisies dans une pépinière ou une plantation en raison de leurs caractéristiques supérieures) pour toutes les espèces, sauf la calamagrostide du Canada – dans le cas de cette espèce, on peut se procurer des graines auprès de fournisseurs qui cultivent des plantes à des fins de remise en état de sites[4]. Pour chacune des espèces expérimentales, les graines doivent provenir du même numéro de lot et devraient être exemptes de fongicide, d'insecticide, de répulsif ou de tout autre agent chimique de *prétraitement*. On trouvera au tableau 2 et dans les sous-sections 2.2 à 2.5 des précisions sur la taille, l'achat, la *stratification*, l'entreposage et l'état des graines.

[3] Les critères à prendre en considération dans le choix des espèces à employer dans une *batterie d'essais* sont les suivants : pertinence par rapport à la végétation environnante et à l'habitat des sols de site; phylogénie; évaluation de la réponse à un toxique de référence (longueur et poids des pousses et des racines); performance et sensibilité dans les *essais préliminaires* (taux de levée dans le sol *témoin*, durée de l'essai, facilité avec laquelle les racines peuvent être séparées du sol, *biomasse* suffisante à la fin de l'essai, temps de levée, effet du sol sur la croissance); type de *germination* (*épigée* ou *hypogée*); inclusion de monocotylédones et/ou de dicotylédones; inclusion d'*angiospermes* et/ou de *gymnospermes*; source, disponibilité et qualité des graines; type de formation des racines; phénologie et caractéristiques du cycle biologique; exigences essentielles quant aux variables (p. ex., pH, nutriments) (ESG, 2002; SRC, 2003).

[4] On devrait s'adresser à des fournisseurs réputés pouvant identifier et obtenir de manière fiable des graines de plantes sauvages indigènes (ou de plantes cultivées dans le cas de la calamagrostide du Canada seulement). Les fournisseurs devraient indiquer la région géographique de collecte des graines. Les laboratoires peuvent se charger de la collecte des graines sauvages si l'identification de la ou des plantes dont elles proviennent a été confirmée par un phytoécologiste ou un taxinomiste qualifié. Il est difficile de trouver des sources commerciales de graines de peuplier faux-tremble viables, en partie parce que la durée de vie des graines est courte et que les fournisseurs commerciaux ne disposent pas des installations voulues pour conserver les graines à l'état congelé. Cependant, comme le peuplier faux-tremble est répandu au Canada, on peut en recueillir les graines et les nettoyer conformément aux indications fournies dans Day et coll. (2003). De nombreux fournisseurs commerciaux et gouvernementaux ont acquis de l'expérience dans la collecte, l'extraction et l'entreposage de graines de verge d'or du Canada, de bouleau à papier, de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire. On recommande d'avoir recours à leurs services.

Tableau 2. Caractéristiques des graines, stratification et fournisseurs

Espèce	Taille des graines (mm)	Graines par gramme	Stratification (min.-max.)[a]	Levée des plantules[b] (minimum)	Fournisseurs[c] (commerciaux et gouvernementaux)
Peuplier faux-tremble	0,5 × 1	5500-8000	aucune; conserver au congélateur à des températures se situant entre -15 °C et -30 °C	4 jours	CAASF, CNSF, CSF, SRC
Calamagrostide du Canada	0,25 × 1	5000-8000	2 semaines à 6 mois	7 jours	Acorus Restoration, BrettYoung, Ontario Seed Co., Sheffield's Seed Co.
Verge d'or du Canada	0,25 × 1	2000-4000	3 semaines à 3 mois	4 jours	Acorus Restoration, ALCLA Native Plants, Bedrock Seed Bank, Gardens North
Bouleau à papier	2 × 2,5	1700-5200	4 semaines à 4 mois	7 jours	CNSF, CSF, Gardens North, Jeffries Nurseries Ltd.
Pin gris	2 × 3,5	200-300	2 semaines à 6 mois	10 jours	CAASF, DFM, ICSFO, YPP
Épinette blanche	1,5 × 3	300-600	3 semaines à 4 mois	18 jours	CSF, DFM, ICSFO, YPP
Épinette noire	1,5 × 2,5	400-1000	3 semaines à 4 mois	16 jours	CSF, DFM, ICSFO, Sheffield's Seed Co., YPP

[a] Durées minimale et maximale recommandées.
[b] Nombre minimal estimatif de jours nécessaires à la levée complète dans un sol artificiel.
[c] V. 2.2 pour les coordonnées des fournisseurs.

2.2 Source des graines

Les graines utilisées pour la mise en route d'un essai de toxicité d'un sol devraient être obtenues auprès de semenciers privés ou de banques de semences gouvernementales. Il n'existe généralement pas de certificat d'origine dans le cas des graines sauvages, mais le fournisseur devrait attester par écrit que les graines n'ont pas été *prétraitées* avec quelque substance que ce soit. Les renseignements suivants devraient être fournis au moment de l'achat des graines :

- espèce (noms scientifique et commun);
- année de la collecte;
- lieu géographique de collecte;
- poids du paquet (exprimé en grammes ou en kilogrammes);
- numéro de lot;
- taux de germination estimatif;
- date de l'estimation du taux de germination;
- date de l'achat;
- durée de conservation;
- nom du fournisseur.

La date à laquelle le paquet de graines est ouvert devrait également être consignée. En règle générale, il est recommandé d'acheter des graines au moins tous les ans[5], de préférence dans l'année suivant la date d'estimation du taux de germination; toutefois, un lot de graines donné peut être utilisé aussi longtemps que les graines satisfont aux critères de performance établis en regard du *sol témoin négatif*

[5] Ceci n'est qu'une recommandation générale, car la viabilité des graines varie d'année en année. C'est pourquoi il pourrait être préférable, dans certains cas, d'utiliser des graines plus âgées et présentant un taux de levée relativement supérieur (connu) plutôt que des graines qu'on vient d'acheter et dont le taux de levée est plus faible (et/ou inconnu), de même que de se procurer des graines auprès de différents fournisseurs. L'approvisionnement du fournisseur peut aussi varier d'année en année.

(v. 4.4) et sous réserve que la sensibilité des graines ne varie pas de façon significative au fil du temps, selon les résultats des *essais avec un toxique de référence* (v. 4.9).

Voici une liste de fournisseurs commerciaux auprès desquels on a obtenu des graines de bonne qualité pour les essais :

Acorus Restoration
722, 6e Concession, R.R. nº 1
Walsingham ON N0E 1X0
Téléphone : 519-586-2603
Télécopieur : 519-586-2447
Site Web : www.ecologyart.com
Courriel : info@ecologyart.com
Espèces : calamagrostide du Canada, verge d'or du Canada

ALCLA Native Plants
3208, ch. Bearspaw N.-O.
Calgary AB T2L 1T2
Téléphone/télécopieur : 403-282-6516
Site Web : www.ALCLAnativeplants.com
Courriel : ALCLA@telus.net
Espèce : verge d'or du Canada

Bedrock Environmental Services Ltd and Bedrock Seed Bank
C.P. 608
Sangudo AB T0E 2A0
Téléphone : 780-448-1722
Site Web : www.bedrockseedbank.com
Courriel : bedrock@telusplanet.net
Espèce : verge d'or du Canada

BrettYoung
C.P. 99
Succursale postale de St-Norbert
Winnipeg MB R3V 1L5
Téléphone : 204-992-7129
Télécopieur : 204-478-2232
Site Web : www.brettyoung.ca
Espèce : calamagrostide du Canada

Gardens North
B.P. 370
Annapolis Royal NS B0S 1A0
Télécopieur : 902-532-7949
Site Web : www.gardensnorth.com
Courriel : seed@gardensnorth.com
Espèces : verge d'or du Canada, bouleau à papier

Jeffries Nurseries Ltd.
B.P. 402
Portage la Prairie (MB) R1N 3B7
Téléphone : 204-857-5288
Télécopieur : 204-857-2877
Site Web : www.jeffriesnurseries.com
Courriel : jeffnurs@mts.net
Espèce : bouleau à papier

Ontario Seed Company
B.P. 7
Waterloo ON N2J 3Z6
Téléphone : 519-886-0557
Télécopieur : 519-886-0605
Courriel : seeds@oscseeds.com
Espèce : calamagrostide du Canada

Sheffield's Seed Company Inc.
269 Auburn Rd, Route 34
Locke, New York 13092, États-Unis
Téléphone : 315-497-1058
Télécopieur : 315-497-1059
Site Web : www.sheffields.com
Courriel : seed@sheffields.com
Espèces : calamagrostide du Canada, épinette noire

YPP – Yellow Point Propagation
C.P. 669, 13735, ch. Quennel
Ladysmith BC V9G 1A5
Site Web : www.yellowpointpropagation.com
Courriel : ypprop@shaw.ca
Espèces : pin gris, épinette blanche, épinette noire

Voici une liste des sources gouvernementales auprès desquelles on a obtenu des graines de bonne qualité pour la mise au point de la présente méthode d'essai (ces sources pourraient aussi fournir des graines à des fins de recherche seulement) :

CAASF – Centre d'amélioration des arbres et de semences forestières
Ministère du Développement des ressources durables de l'Alberta
C.P. 750, Smoky Lake AB T0A 3C0
Téléphone : 780-656-5073,
Télécopieur : 780-656-2120
Courriel : donna.palamarek@gov.ab.ca
Espèces : peuplier faux-tremble, pin gris

CNSF – Centre national des semences forestières
Service canadien des forêts - Atlantique
Ressources naturelles Canada
C.P. 4000, Fredericton NB E3B 5P7
Téléphone : 506-452-3530
Télécopieur : 506-452-3525
Site Web : http://cfs.nrcan.gc.ca/subsite/seedcentre
Courriel : Dale.Simpson@nrcan.gc.ca
Espèces : peuplier faux-tremble, bouleau à papier (à des fins de recherche)

CSF – Centre de semences forestières
Direction de l'amélioration des arbres
Ministère des Forêts de la Colombie-Britannique
Téléphone : 604-541-1683, poste 2228
Télécopieur : 604-541-1685
Site Web :
www.for.gov.bc.ca/hti/treeseedcentre/index.htm
Espèces : peuplier faux-tremble, bouleau à papier, épinette blanche, épinette noire

DFM – Direction des forêts du Manitoba
(graines fournies par la pépinière forestière Pineland)
C.P. 45
Hadashville MB R0E 0X0
Téléphone : 204-426-3235
Télécopieur : 204-426-2106
Site Web : www.pinelandforestnursery.com
Courriel : Trevor.Stanley@gov.mb.ca
Espèces : pin gris, épinette blanche, épinette noire

ICSFO – Installation de conditionnement des semences forestières de l'Ontario
Ministère des Richesses naturelles de l'Ontario
Téléphone : 877-861-8881, 705-424-5311
Télécopieur : 705-424-9282
Site Web :
www.mnr.gov.on.ca/en/Business/Forests/2ColumnSubPage/STEL02_166052.html
Courriel : ontariotreeseed@ontario.ca
Espèces : pin gris, épinette blanche, épinette noire

SRC – Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-5400
Télécopieur : 306-933-7817
Site Web : www.src.sk.ca
Courriel : info@src.sk.ca
Espèce : peuplier faux-tremble

On peut obtenir une liste à jour de fournisseurs à l'adresse suivante :

Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes
Direction générale de la science et de la technologie
Environnement Canada
335, ch. River Sud
Ottawa ON K1A 0H3
Courriel : methods@ec.gc.ca

2.3 Tri et stratification des graines

Les graines de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada, de bouleau à papier, de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire doivent être stratifiées avant les essais toxicologiques[6]. La *stratification* est un processus par lequel les graines s'imbibent d'humidité, ce qui permet de les sortir de leur dormance physiologique, d'améliorer le taux global de germination et de synchroniser celle-ci. Pendant la mise au point de la présente méthode, on a obtenu de bons résultats en réfrigérant à 4 ± 2 °C une aliquote de graines sèches dans de la mousse de tourbe humide. La durée de stratification recommandée (v. tableau 2) varie selon l'espèce et, dans une certaine mesure, selon la teneur en humidité et l'âge des graines avant la stratification. Lorsqu'elles sont entreposées et stratifiées adéquatement, les graines âgées de plusieurs années peuvent germer vigoureusement. On peut calculer le poids des graines à stratifier d'après les besoins prévus des essais et le nombre de graines par gramme (v. tableau 2).

Les graines de bouleau à papier devraient être triées avant la stratification. À cette fin, on utilise une méthode de flottation dans l'éthanol pour séparer les graines vides, endommagées par les insectes ou défectives, des graines renflées et fécondes dont on a besoin pour les essais toxicologiques (Bjorkroth, 1973; Simpson et Daigle, 2011)[7]. Il est recommandé d'employer cette méthode (décrite en détail à l'annexe E) pour améliorer le taux de levée. De plus, le désailage des graines avant la séparation à l'éthanol peut aussi hausser ce taux[8].

Il est possible que des graines stratifiées germent pendant leur réfrigération dans la mousse de tourbe

---

[6] À cette fin, on met de la tourbe sèche tamisée dans un sac en plastique à fermeture à glissière, on l'humidifie et on la mélange après ajout d'une quantité suffisante d'eau désionisée. On presse ensuite la tourbe jusqu'à ce qu'elle ne s'égoutte plus. Après avoir ajouté un nombre suffisant de graines, on secoue le mélange, puis on roule le sac pour en éliminer l'air. On réfrigère ensuite le sac pendant au moins le temps minimal indiqué au tableau 2.

[7] Certains fournisseurs (comme le ministère des Forêts de la Colombie-Britannique) procèdent parfois à un tri préalable des graines de bouleau à papier à l'aide de cette méthode. Lorsque c'est le cas, aucune autre séparation à l'éthanol n'est nécessaire.

[8] Pendant la mise au point de la présente méthode, le SRC et le Laboratoire de toxicologie des sols (LTS) d'Environnement Canada ont observé un faible taux de germination et de levée des graines de bouleau à papier, ce qui les a amenés à entreprendre des recherches afin d'améliorer ce taux (SRC, 2012; EC, 2013b). Les résultats de ces recherches montrent que le désailage des graines de bouleau à papier et leur séparation à l'éthanol, puis leur stratification pendant 4 semaines et, enfin, un tri des graines saines à l'aide d'un microscope (illuminé par le dessous) améliorent le taux de levée des graines de cette espèce (v. annexe E).

et qu'on observe des moisissures. Le taux de germination de ces graines diminuera et il faut les éliminer si des moisissures apparaissent ou si ≥10 % des graines ont germé. Avant les essais, on devrait évaluer le taux de germination[9] de façon périodique afin de s'assurer qu'on dispose de graines stratifiées de bonne qualité pour les essais. Étant donné que les graines de peuplier faux-tremble ne sont pas stratifiées avant le semis, on peut évaluer leur taux de germination comme suit : retirer une aliquote de graines (10-20 graines) du congélateur et laisser celles-ci germer sur un papier filtre humide, sous éclairage, comme pour les graines stratifiées.

Pour choisir les graines qui serviront aux essais, on disperse une aliquote de graines stratifiées (et de mousse de tourbe pour toutes les espèces, sauf le peuplier faux-tremble) dans une boîte de Petri qu'on place sous un stéréomicroscope de faible puissance, puis on extrait les graines de la tourbe. Il est important de choisir des graines fermes, de forme régulière, non meurtries ni endommagées et ne présentant aucun signe de germination. Comme les lots de graines de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada et de bouleau à papier peuvent renfermer des résidus végétaux et des enveloppes vides, il est recommandé d'utiliser un microscope illuminé par le dessous pour choisir des graines saines aux embryons renflés, qui sont plus susceptibles d'être fécondes. On devrait tapoter délicatement les graines afin de bien distinguer celles qui sont fermes et de bonne qualité de celles qui sont molles, dégradées ou vides. Le tégument des graines d'épinette blanche ou d'épinette noire qui ont été stratifiées est parfois fendu, ce qui est normal (et ne nuit en rien). Pour réduire la possibilité d'une germination prématurée, on veillera à sortir le moins longtemps possible du réfrigérateur les lots de graines stratifiées.

[9] À cette fin, on met 10-20 graines sur un papier filtre humide déposé sur une ou plusieurs couches de papier filtre en fibre de verre humecté dans une boîte de Petri. On place un film scelleur sur le pourtour de la boîte, puis on fait incuber les graines dans les conditions de l'essai pendant ≤3 semaines. On compte les graines germées toutes les semaines.

2.4 Entreposage des graines

Avant leur *stratification*, les graines (qu'elles soient recueillies sur le terrain ou achetées) devraient être conservées dans leur emballage d'origine et entreposées à l'abri de la lumière, dans des contenants hermétiques étiquetés (p. ex., sacs de type Ziploc[MC]). Immédiatement après leur nettoyage, les graines de peuplier faux-tremble doivent être congelées et entreposées à une température se situant entre -15 °C et -30 °C. On peut conserver au réfrigérateur (à 4 ± 2 °C) ou au congélateur[10] (entre -15 °C et -30 °C) les graines sèches de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada, de bouleau à papier, de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire jusqu'au moment du prélèvement d'une aliquote aux fins de leur stratification (au réfrigérateur, à 4 ± 2 °C) préalablement aux essais. Le jour de la mise en route de l'essai (jour 0), on doit retirer une partie des graines stratifiées du réfrigérateur (ou du congélateur dans le cas du peuplier faux-tremble) et porter celles-ci à la température ambiante (pendant 10-15 min).

2.5 État des graines

La sensibilité de chaque nouveau lot de graines utilisé dans un *essai définitif* de toxicité d'un sol doit être mesurée au moyen d'un *essai avec un toxique de référence* (voir 4.9) de 14, 21, 28 ou 35 jours (selon l'espèce). Idéalement, ces deux essais devraient être exécutés en parallèle. Toutefois, les laboratoires qui effectuent régulièrement des essais de toxicité de sols préféreront peut-être réaliser périodiquement des essais toxicologiques de référence (au moins tous les deux mois) avec une portion de chaque lot de graines utilisé pour les essais définitifs. Tous les essais avec un ou des *toxiques de référence* devraient être réalisés dans les conditions et selon les modes opératoires exposés

[10] On peut garder au congélateur les graines de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada, de bouleau à papier, de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire tant et aussi longtemps que leur teneur en humidité ne dépasse pas 10 %. Le Centre national des semences forestières (CNSF) a établi à 8 % la limite supérieure de cette teneur. Si l'entreposage au congélateur convient le mieux, le fait de sortir continuellement les graines du congélateur, de les porter à la température ambiante, puis de les remettre au congélateur avant de recommencer le cycle au fur et à mesure des besoins entraîne un stress pour les graines et finit par les tuer. Le CNSF suggère de placer de petites quantités de graines dans des fioles, de congeler celles-ci puis d'en sortir une ou deux à la fois quand on en a besoin [D. Simpson, CNSF, Fredericton (NB), comm. pers., 2011].

en 4.9. On trouvera en 4.4 les critères expérimentaux utilisés pour juger de la validité d'un essai définitif avec une espèce donnée (et, indirectement, de l'état des graines du lot utilisé dans l'essai), et ce, d'après la performance des plantes cultivées dans le *sol témoin négatif*.

Système d'essai

3.1 Installations et appareils

Les essais doivent être exécutés dans une enceinte à atmosphère contrôlée ou une installation équivalente dans laquelle on peut commander adéquatement la température et l'éclairage (v. 4.3)[11]. L'installation d'essai devrait être bien aérée afin de protéger le personnel des émanations nocives et être isolée de toute perturbation physique ou de tout contaminant susceptible de nuire aux organismes expérimentaux. La zone de préparation des *sols d'essai* devrait également être bien aérée.

L'installation d'essai devrait être isolée des endroits où les échantillons sont entreposés ou préparés, et ce, pour prévenir tout risque de contamination des récipients d'essai et de leur contenu par ces sources. Le système de ventilation devrait être conçu et utilisé de façon à empêcher l'air de la zone de manipulation et d'entreposage des échantillons ou de la zone de traitement ou d'essai des substances chimiques de contaminer la partie du laboratoire où les essais sont exécutés, et il devrait faire l'objet d'inspections à cet égard.

La température ambiante moyenne dans l'installation d'essai doit être maintenue à 24 ± 3 °C. Toutefois, s'il est possible de régler la température selon un changement cyclique dans les installations d'essai où se trouvent les enceintes de croissance, il est recommandé de maintenir des températures moyennes de 24 ± 3 °C le jour et de 15 ± 3 °C la nuit. On devrait maintenir l'humidité relative de l'installation d'essai à ≥50 %[12].

Tout matériau de construction susceptible d'entrer en contact avec les organismes, l'eau ou les récipients d'essai doit être non toxique et devrait réduire au minimum la sorption de substances chimiques. On devrait utiliser, dans toute la mesure du possible, le verre borosilicaté, le nylon, le polyéthylène ou le polystyrène haute densité, les polycarbonates, les plastiques fluorocarbonés, le Téflon[MC], le Nalgène[MC], la porcelaine, la fibre de verre et l'acier inoxydable 316 pour réduire au minimum la sorption et la lixiviation des substances chimiques. On doit éviter les matériaux *toxiques*, dont le cuivre, le zinc, le laiton, le métal galvanisé, le plomb et le caoutchouc naturel.

L'installation d'essai doit comporter les instruments de base exigés pour surveiller la qualité (p. ex., température, pH) du *sol d'essai* et de l'*eau d'essai* (*d'hydratation*) qui y est associée. En outre, le laboratoire devrait être équipé d'instruments permettant de procéder à des analyses rapides et précises de la *teneur en humidité* du sol d'essai. Le matériel requis comprend un four de séchage qui peut être réglé à 90 °C pour sécher les organismes d'essai et à 105 °C pour sécher les échantillons de sol, une balance permettant des mesures fiables à 0,1 mg près, un luxmètre et un pH-mètre. Le matériel de protection exigé pendant la préparation des mélanges et des aliquotes de sol d'essai comprend un respirateur avec filtre contre la poussière, des gants, des vêtements de laboratoire et des lunettes de sécurité.

Tous les récipients d'essai, tout l'équipement et toutes les fournitures susceptibles d'entrer en contact avec les *sols de site*, les *sols d'essai*, l'*eau d'essai* (*d'hydratation*), les *solutions mères* ou les solutions d'essai doivent être propres et rincés avant usage à l'*eau désionisée* ou *distillée* (c.-à-d. l'*eau d'essai*). On devrait laver après usage toutes les fournitures non jetables. On recommande la méthode de nettoyage suivante (EC, 1997a, 1997b, 2004a, 2005a, 2007a) :

1) trempage dans l'eau du robinet (avec ou sans détergent) pendant 15 min, puis récurage avec un détergent ou lavage au lave-vaisselle automatique;
2) double rinçage à l'eau du robinet;

[11] Les serres ne sont pas considérées comme des équivalents acceptables des installations d'essai, car il est généralement difficile d'en contrôler les conditions d'éclairage, de température et d'humidité.

[12] L'humidité relative de l'installation d'essai n'aura pas un effet marquant sur la fréquence d'hydratation du sol exigée pendant l'essai, car il est recommandé de laisser les couvercles en place pendant toute la durée de l'essai.

3) rinçage soigneux à l'acide nitrique (HNO_3) ou chlorhydrique (HCl) (qualité sans métal) frais dilué (10 % en volume[13]) afin d'éliminer le tartre, les métaux et les bases;
4) double rinçage à l'eau désionisée (ou autre *eau d'essai*);
5) rinçage unique à l'acétone non diluée de qualité pesticide afin d'éliminer les composés organiques, et à l'hexane de qualité réactif (p. ex., qualité CLHP, pureté de ≥98,5 %) pour éliminer les résidus huileux (travailler sous une hotte)[14];
6) après avoir laissé le solvant organique se volatiliser des récipients sous la hotte, nouveau lavage avec du détergent (récurer au besoin);
7) triple rinçage à l'eau désionisée (ou autre *eau d'essai*).

Les récipients d'essai et les appareils susceptibles d'entrer en contact avec le sol ou l'*eau d'essai* (*d'hydratation*) devraient être rincés à fond à l'eau d'essai (d'hydratation) immédiatement avant l'emploi.

3.2 Essais initiaux et essais définitifs

3.2.1 Essais initiaux

Avant de procéder pour la première fois à des essais toxicologiques *définitifs* avec des plantes, le laboratoire devrait effectuer ≥5 essais de performance *témoins* sur un ou des échantillons du sol naturel non contaminé ou du *sol artificiel* qu'il utilisera (ou envisage d'utiliser) comme *sol témoin négatif* dans un ou des essais définitifs de toxicité du sol (v. 3.4). En outre, ≥5 *essais toxicologiques de référence* devraient être exécutés sur un ou des échantillons du sol témoin négatif artificiel ou naturel que le laboratoire entend utiliser en parallèle avec les essais définitifs (v. 4.9). Ces essais initiaux sont recommandés pour confirmer que le laboratoire peut obtenir, pour chaque espèce expérimentale et conformément aux modes opératoires décrits dans le présent document, une performance acceptable dans ce sol témoin.

Les conditions et modes opératoires retenus pour effectuer ces essais initiaux sur un *sol témoin négatif* devraient être identiques et conformes à ceux décrits à la section 4. Dans le cas des essais initiaux avec un ou des *toxiques de référence*, les conditions et modes opératoires devraient être identiques et conformes à ceux décrits en 4.9. Chaque série d'essais initiaux sur un *sol témoin négatif* ou avec un ou des *toxiques de référence* devrait être effectuée avec l'espèce ou les espèces de plantes de la région boréale qu'on entend utiliser dans les essais définitifs.

Les données des essais de performance témoins (n = ≥5) doivent montrer que les critères de validité des essais (v. 4.4) peuvent être satisfaits pour l'espèce prévue et pour le sol naturel ou *artificiel* qu'on entend utiliser comme sol témoin négatif dans les essais définitifs. La méthode recommandée pour mettre en parallèle les données des essais initiaux (n = ≥5) consiste à calculer et à comparer la grandeur du *coefficient de variation* (CV) pour les séries d'essais respectives et les valeurs des paramètres (v. 4.9).

3.2.2 Essais définitifs

Les récipients d'essai qui seront utilisés dans les essais *définitifs* doivent être inertes aux substances d'essai et de référence ou aux mélanges de *contaminants* (en d'autres termes, ces substances ou mélanges ne devraient pas adhérer aux récipients d'essai ou réagir de quelque façon que ce soit avec les récipients). Les récipients devraient être assez grands pour offrir un espace de croissance suffisant aux *plantules* pendant l'essai. Il est important d'utiliser des récipients dont la taille, la forme, la couleur et la composition conviennent à l'espèce végétale choisie. Les récipients devraient être dotés de couvercles fermant hermétiquement et ne devraient pas interférer avec la qualité de la lumière à l'intérieur des récipients. Il est recommandé d'utiliser, pour les essais de croissance de plantes de la région boréale décrits dans le présent document, des récipients en polypropylène transparent de 1 L, munis d'un couvercle en polypropylène transparent

[13] Pour préparer une solution d'acide titrant 10 %, ajouter lentement 10 mL d'acide concentré à 90 mL d'eau désionisée.

[14] Il n'est pas recommandé de rincer le Plexiglas[MC] à l'acétone ou à l'hexane, car ces solvants peuvent dépolir et attaquer ce matériau et lui faire perdre sa transparence.

lui aussi[15]. On peut également employer des bocaux en verre de 1 L avec couvercles transparents (p. ex., des couvercles en verre à charnière)[16]. Les récipients d'essai devraient être couverts pendant toute la durée de l'essai. Si on utilise des récipients en polypropylène, on peut pratiquer 5 trous dans les couvercles à l'aide d'une punaise pour réduire la condensation. Si les plantes atteignent le haut du récipient, on devrait remplacer le couvercle par un récipient d'essai renversé ou autre récipient transparent et le fixer en place à l'aide de ruban adhésif – l'espace libre ainsi créé permettra aux plantes de continuer de croître.

3.3 Éclairage

Les récipients d'essai devraient être éclairés à l'aide d'une lumière fluorescente en spectre continu ou l'équivalent. Le débit de fluence photonique, mesuré près de la surface du sol, doit être de 300 ± 100 µmol/($m^2 \cdot s$) (ce qui équivaut à 18 750 ± 6 250 *lux*). Étant donné que l'intensité lumineuse a tendance à varier dans un espace donné, il est recommandé de la mesurer en plusieurs points dans la zone d'essai. La variation du débit de fluence photonique dans cette zone devrait être de ±15 % tout au plus par rapport au débit choisi[17].

3.4 Sol témoin négatif

Chaque essai de toxicité d'un sol doit comporter un *sol témoin négatif* parmi les *traitements* expérimentaux. Un sol témoin négatif est essentiellement exempt de tout contaminant qui pourrait nuire à la performance des plantes pendant l'essai. L'utilisation d'un sol témoin négatif fournit une mesure de l'acceptabilité de l'essai, une preuve de la santé et d'une performance adéquate des organismes expérimentaux, l'assurance que les conditions et modes opératoires sont appropriés et une base pour l'interprétation des données obtenues avec les *sols d'essai*.

Dans un essai de toxicité d'un sol, on peut utiliser un sol naturel *non contaminé* et/ou un *sol artificiel* comme sol témoin négatif. Les points à prendre en considération dans le choix d'un sol témoin négatif approprié comprennent le plan de l'étude, les caractéristiques physicochimiques du ou des *sols d'essai* et la disponibilité d'un sol naturel *non contaminé* présentant des propriétés acceptables[18]. Pour les essais *définitifs* sur un sol prélevé sur le terrain, on devrait utiliser comme sol témoin négatif un sol naturel non contaminé. On devrait également posséder des preuves expérimentales que le sol témoin négatif choisi permettra de satisfaire aux critères de validité de l'essai établis dans le présent document en regard de la *levée* et de la croissance des plantules, et ce, de manière régulière et fiable (v. 4.4).

La méthode d'essai biologique décrite ici a été élaborée et mise à l'essai avec neuf sols témoins négatifs présentant diverses caractéristiques physicochimiques (SRC, 2009; EC, 2010, 2013b). Ces sols *non contaminés* incluaient un *sol artificiel* et

---

[15] Les récipients en polypropylène de 1 L présentent les avantages suivants : 1) ils sont jetables et n'ont pas besoin d'être lavés; 2) leur transparence permet d'observer l'eau qui s'accumule au fond des contenants (une fois la saturation du sol atteinte) lorsqu'on arrose par le haut; 3) ils sont relativement peu coûteux et se trouvent facilement; 4) ils peuvent contenir de 300 mL à près de 1 L de sol sans changer notablement le ratio surface active-volume en raison de leur forme conique; 5) ils existent dans une variété de tailles (p. ex., 500 mL et 1000 mL) et ont des couvercles-pression qu'il est facile d'enlever et de replacer pour l'arrosage; 6) les couvercles ne modifient pas de façon importante la fluence photonique ni n'interfèrent avec elle; 7) il est possible d'observer les effets de la phytotoxicité sans enlever les couvercles.

[16] Ces bocaux se sont révélés une bonne solution de rechange dans une étude où une substance d'essai hautement volatile réagissait avec les récipients en polypropylène de 1 L, ce qui compromettait leur intégrité (Stephenson et coll., 2001).

[17] Dans les essais toxicologiques avec des plantes, l'intensité lumineuse et son contrôle peuvent être aussi importants, sinon plus, que le pH et la température. Il est recommandé de vérifier le débit de fluence photonique dans toute la zone d'essai avant la mise en route des essais. La distance entre le feuillage et la source de lumière peut être augmentée ou réduite afin d'obtenir les conditions d'éclairage appropriées. On peut aussi « cartographier » la portion de la zone d'essai dans laquelle le débit de fluence photonique s'écarte de <15 % de la valeur choisie afin de délimiter la zone où le débit de fluence photonique est adéquat (EC, 1999b, 2005a).

[18] Une page du site Web du Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME) est consacrée aux Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement ainsi que pour la qualité des sols (www.ccme.ca). L'information qu'on y trouve est utile lorsqu'on examine les données analytiques [p. ex., les valeurs pour les métaux ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)] relatives à des échantillons de sol prélevés sur le terrain, dans un endroit envisagé comme source de sol naturel pouvant être utilisé comme sol témoin négatif dans des essais toxicologiques. On peut avoir accès directement au tableau sommaire des Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement à l'adresse http://st-ts.ccme.ca/?lang=fr. Ces deux sites Web et les liens connexes aideront les expérimentateurs dans l'examen des caractéristiques physicochimiques de sols naturels présumés *non contaminés* qu'ils envisagent d'utiliser comme sol témoin négatif dans des essais de toxicité de sols. On peut également communiquer avec le CCME par téléphone (1-204-948-2090) ou par courriel (info@ccme.ca).

huit sols naturels de la forêt boréale (podzol humo-ferrique gleyifié de Terre-Neuve, du Nouveau-Brunswick et de l'Ontario; luvisol gris foncé, brunisol eutrique orthique et brunisol dystrique éluvié de la Saskatchewan; gleysol humique régosolique et chernozem gris foncé régosolique de l'Alberta). Ces sols présentaient des compositions différentes en ce qui a trait aux caractéristiques physicochimiques susceptibles d'influer sur le devenir et les effets des contaminants. Tous les sols prélevés sur le terrain venaient de zones n'ayant fait l'objet d'aucun épandage direct de pesticides au cours des années précédentes et, partant, étaient considérés comme « *non contaminés* ». L'origine et les caractéristiques physicochimiques de ces sols naturels sont décrites en détail à l'annexe F. Les critères de validité des essais (v. 4.4) pour les diverses espèces de plantes sont fondés sur les données relatives à la performance de ces plantes dans un sol témoin négatif, données qui ont été obtenues pour chacun de ces neuf sols (SRC, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC et SRC, 2007; EC, 2010, 2013b).

3.4.1 Sol naturel

Le sol témoin négatif peut être un sol naturel prélevé sur un site *non contaminé* dont on sait qu'il n'a fait l'objet d'aucun épandage de pesticides ou d'engrais depuis ≥5 ans. Avant d'utiliser un sol *non contaminé* prélevé sur le terrain comme *sol témoin négatif* dans un essai toxicologique définitif, le laboratoire d'essai doit posséder des preuves expérimentales que ledit sol permettra de satisfaire aux critères de validité de l'essai (v. 4.4).

En conséquence, le laboratoire doit exécuter des essais initiaux sur un échantillon de ce sol et avec l'espèce prévue de plante de la région boréale afin de confirmer que la performance des organismes expérimentaux est adéquate en regard des critères de validité de l'essai (v. 3.2.1). En supposant que les résultats de ces essais initiaux sont satisfaisants, il doit ensuite analyser tous les échantillons de sol naturel choisis pour être éventuellement utilisés comme *sol témoin négatif* dans des essais de toxicité d'un sol (ainsi que les échantillons de *sol de référence* possible) par rapport aux caractéristiques physicochimiques suivantes :

- granulométrie (pourcentage de sable, de limon et d'argile);
- teneur en *carbone organique total* (COT)[19];
- teneur en *matière organique* (TMO)[19];
- *pH*;
- *conductivité*;
- *teneur en humidité*;
- *capacitéde retention d'eau* (CRE);
- azote total, nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-) et ammonium (NH_4^+);
- phosphore phytodisponible et/ou total;
- potassium phytodisponible et/ou total;
- ratio C/N;
- *capacité d'échange cationique* (CEC).

On devrait aussi procéder aux analyses suivantes :

- anions et cations majeurs (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Al^{3+}, S^{2-}, Cl^-).

Il est recommandé de procéder aux analyses préalables suivantes pour confirmer que le sol témoin négatif et/ou le sol de référence ne sont pas contaminés :

- insecticides organophosphorés;
- insecticides organochlorés;
- herbicides;
- métaux;
- hydrocarbures pétroliers (y compris les HAP);
- autres contaminants préoccupants propres au site ou à la région.

Les concentrations de pesticides et de métaux ne devraient pas excéder celles établies dans les Recommandations canadiennes pour la qualité des sols, le cas échéant (v. la note de bas de page n° 18). Si les graines qui étaient présentes dans un sol naturel au moment de son prélèvement germent pendant l'entreposage ou les essais, les plantules correspondantes doivent être éliminées. Si les résultats des essais biologiques initiaux et des analyses physicochimiques sont satisfaisants, on peut prélever un plus gros échantillon de ce sol naturel, le laisser sécher à l'air jusqu'à ce qu'il ait une *teneur en humidité* comprise entre 10 et 20 %, le tamiser avec un tamis à grosses mailles (4-10 mm), le transférer dans des seaux en plastique propres, soigneusement rincés, et l'entreposer dans l'obscurité à 4 ± 2 °C

[19] On peut calculer le *COT* d'après la teneur en *matière organique* (TMO) en multipliant cette dernière par une constante du sol (AESA, 2001). Toutefois, comme la relation entre le COT et la matière organique varie légèrement d'un sol à un autre, la teneur en COT devrait être déterminée également au moyen d'analyses de laboratoire.

jusqu'à ce qu'on en ait besoin. On ne devrait pas utiliser de seaux en plastique pour le prélèvement et l'entreposage des échantillons de sol s'il y a un risque de lixiviation des composantes chimiques du plastique dans le sol.

3.4.2 Sol artificiel

Le *sol témoin négatif* peut être un *sol artificiel* préparé en laboratoire. Il est recommandé d'employer un sol artificiel pour les essais avec un toxique de référence, car cette façon de procéder constitue une approche uniforme et normalisée (v. 4.9).

Conformément aux recommandations de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE, 1984, 2004), de l'United States Environmental Protection Agency (USEPA, 1989), de l'Organisation internationale de normalisation (ISO, 1991, 1993, 1998) et d'ASTM International (ASTM, 2004) relatives à la préparation d'un sol artificiel pour les essais avec des vers de terre, de même qu'aux recommandations d'Environnement Canada relatives aux essais visant à évaluer la toxicité d'un sol pour les vers de terre, les plantes et les collemboles (EC, 2004a, 2005a, 2007a), on devrait employer les ingrédients suivants pour préparer le sol artificiel qui sera utilisé dans la présente méthode d'essai biologique :

- 10 % de tourbe (*Sphagnum* sp.) séchée à l'air et tamisée avec un tamis à mailles de 2 mm;
- 20 % de kaolin dont les particules sont de <40 µm;
- 70 % de sable siliceux de « qualité 70 ».

Les ingrédients devraient être mélangés soigneusement, à sec, à l'aide d'un agitateur mécanique et/ou manuellement (porter des gants)[20]. On recommande d'ajouter du carbonate de calcium ($CaCO_3$) de qualité réactif au mélange sec, en quantité suffisante pour que le pH du *sol artificiel*, une fois hydraté, se situe entre 6,5 et 7,5[21]. On hydrate ensuite le mélange graduellement à l'aide d'*eau d'essai* (eau désionisée ou distillée) jusqu'à ce que sa *teneur en humidité* soit de ~20 % (ce qui correspond à ~28 % de la *CRE* du sol), tout en continuant de mélanger jusqu'à obtention d'une couleur et d'une texture uniformes. Au besoin, on ajoutera au mélange hydraté du $CaCO_3$ de qualité réactif en quantité suffisante pour maintenir le pH dans la plage de 6,5-7,5. Les échantillons de sol artificiel dont on a ajusté le pH devraient être entreposés dans l'obscurité, à 20 ± 2 °C, pendant ≥3 jours avant d'être utilisés dans un essai de toxicité afin que le pH ait le temps de s'équilibrer (v. note de bas de page n° 21). Par la suite, ces échantillons peuvent être entreposés à 4 ± 2 °C. Lorsque le sol artificiel entreposé doit être utilisé dans un essai toxicologique, on recommande d'en hydrater de nouveau la quantité appropriée, à l'aide d'eau d'essai, jusqu'à obtention d'une teneur en humidité équivalant à ~70 % de la CRE.

3.5 Sol témoin positif

Il est recommandé d'inclure un ou des échantillons de *sol témoin positif* dans chaque série d'essais toxicologiques avec des plantes de la région boréale afin de faciliter l'interprétation des résultats des essais. On s'efforcera de choisir, comme sol témoin positif, un sol *toxique* qui provoquera chez les organismes d'essai une réponse prévisible, c'est-à-dire une réponse observée dans des essais de toxicité réalisés antérieurement avec cette matière. Le

---

[20] Il est recommandé de commencer à mélanger les ingrédients secs (pour incorporer le carbonate de calcium) à l'aide d'un agitateur mécanique. On poursuivra à la main (porter des gants) afin que tout le sol, y compris dans les coins du récipient, soit bien mélangé. Le personnel doit prendre les précautions nécessaires pour éviter toute inhalation des poussières et tout contact avec ces ingrédients.

[21] La quantité de $CaCO_3$ requise pour ajuster le pH du sol artificiel dans la plage indiquée dépend de la nature (c.-à-d. de l'acidité) des ingrédients (en particulier de la tourbe *Sphagnum* sp.). Entre 10 et 30 g de $CaCO_3$ par kilogramme de tourbe pourraient suffire. Sans ajout de $CaCO_3$, le sol artificiel fraîchement préparé peut facilement avoir un pH de seulement 4,5. Lorsqu'on ajuste le pH, il est recommandé de viser un pH de 7,0-7,5, car le pH d'un sol artificiel baisse légèrement (à 6,5-7,0), en règle générale, pendant la période d'équilibration de 3 jours, avant de se stabiliser. On recommande de vérifier régulièrement (p. ex., toutes les deux semaines) le pH des échantillons de sol artificiel entreposés afin de vérifier qu'il n'a pas trop varié; on ajoutera au besoin du $CaCO_3$ [Aquaterra Environmental, 1998a; G.L. Stephenson, Aquaterra Environmental, Orton (ON), comm. pers., 2001].

On peut également entreposer un mélange de sol artificiel sec; ce mélange sera ensuite hydraté partiellement jusqu'à ce qu'il ait une teneur en humidité de ~20 %, entreposé à 20 ± 2 °C pendant ≥3 jours, puis de nouveau hydraté lorsqu'on voudra l'utiliser dans un essai de toxicité, jusqu'à ce que sa teneur en humidité atteigne ~70 % de sa CRE. Lorsqu'on entrepose un sol artificiel sec, il faut l'hydrater partiellement (jusqu'à ~20 % d'humidité) et le laisser reposer un certain temps (≥3 jours) afin que le pH se stabilise dans la plage recommandée dans la présente méthode pour un sol artificiel entreposé partiellement hydraté. Dans cette méthode facultative, il est nécessaire d'entreposer temporairement le sol artificiel partiellement hydraté afin de pouvoir ajouter la quantité d'eau (et, dans certains cas, de solution chimique) nécessaire pour obtenir le pH et la teneur en humidité (c.-à-d. ~70 % de la CRE) requis pour un sol d'essai artificiel. On considère qu'il est préférable d'entreposer le sol artificiel partiellement hydraté, plutôt que sec, car cela permet au personnel du laboratoire de l'hydrater plus rapidement pour obtenir la teneur en humidité voulue (~70 % de la CRE) tout en veillant à l'équilibre du pH, en plus de réduire toute perte de temps associée à l'entreposage du sol artificiel sec.

sol témoin positif peut être un échantillon de sol témoin négatif enrichi avec un *toxique de référence* pour lequel on dispose de données historiques concernant sa phytotoxicité, mesurée dans des conditions et selon des modes opératoires précis. Aux fins de la présente méthode d'essai, on doit utiliser comme sol témoin positif un ou des toxiques de référence lorsqu'on évalue la sensibilité des organismes expérimentaux ainsi que la *précision* et la fiabilité des résultats obtenus par le laboratoire avec cette matière (v. 4.9). On peut également inclure dans les essais un échantillon de sol témoin négatif (naturel ou artificiel; v. 3.4) enrichi expérimentalement (section 6) avec une ou des substances chimiques *toxiques* préoccupantes lorsqu'on évalue l'échantillon ou les échantillons de *sol d'essai*, à une *concentration* toxique pour l'espèce végétale utilisée conformément à la méthode d'essai biologique décrite ici. Dans certains cas, on pourrait inclure un sol témoin positif composé d'un échantillon fortement contaminé de sol ou de boues prélevé sur le terrain, qui s'est révélé systématiquement toxique pour des plantes de la région boréale dans des essais réalisés selon la présente méthode[22].

3.6 Sol de référence

Un ou des échantillons de *sol de référence* pourraient être inclus dans un essai visant à évaluer la toxicité d'un sol pour des plantes de la région boréale[23]. Le type et la nature de l'échantillon ou des échantillons de sol utilisés comme sol de référence dans une étude donnée dépendent du schéma expérimental et des objectifs de l'étude. Si l'étude porte sur la toxicité d'échantillons de sol prélevés sur un *site* contaminé ou susceptible d'être contaminé, on pourrait utiliser, comme sol de référence, un ou des échantillons de sol prélevés sur un site *non contaminé* dont les propriétés physicochimiques (p. ex., *texture*, *TMO*, teneur en carbone organique, *pH*, *conductivité* et *fertilité*) concordent le plus possible avec celles de l'échantillon ou des échantillons du sol d'essai (*contaminé*). Idéalement, le lieu de prélèvement du sol de référence se trouve près du ou des *sites* d'où proviennent les échantillons de *sol d'essai*, mais il est éloigné de la ou des sources de contamination. Un sol de référence *non contaminé* éloigné du ou des sites à l'étude pourrait également être choisi si des essais antérieurs avec des plantes ont révélé qu'il n'est pas toxique et qu'il possède des caractéristiques physicochimiques comparables à celles du sol d'essai. Comme dans le cas des sols d'essai (v. 3.7), les sols de référence doivent, dans la mesure du possible, être échantillonnés par *horizon pédologique*. En laboratoire, les horizons sont reconstitués dans les récipients d'essai proportionnellement à la profondeur qu'ils atteignaient *in situ* (v. 4.1). On pourrait soumettre un ou des échantillons non dilués d'un horizon de sol de référence prélevé sur le terrain à un essai de détermination de leurs effets *toxiques*, ou mélanger ces échantillons avec ceux du sol d'essai pour préparer la gamme de concentrations à inclure dans un essai à concentrations multiples[24] (v. 3.7, 4.1 et 5.3). On ne devrait pas prélever d'échantillons de sol de référence dans des sites dont on sait qu'ils ont fait l'objet d'épandages de pesticides ou d'engrais au cours des 5 dernières années.

L'expérimentateur pourrait choisir d'inclure un ou des échantillons de *sol artificiel* comme sol de référence dans un essai particulier, notamment dans des essais à concentrations multiples sur des *sols de site* ou des *sols enrichis avec une substance chimique*, afin d'étudier l'influence de certaines caractéristiques physicochimiques (p. ex., un certain nombre de sols de référence artificiels préparés pour fournir une gamme de valeurs en regard de la *texture* et/ou de la TMO; Sheppard et Evenden, 1998; Stephenson et coll., 2002) sur la toxicité d'un sol de site contaminé ou d'un sol enrichi avec une substance chimique. On pourrait aussi utiliser à cette fin des échantillons multiples de sol non contaminé prélevé sur le terrain à divers endroits, qui présentent une ou des caractéristiques physicochimiques très différentes. Dans ce cas, il est recommandé d'inclure dans l'essai une portion non diluée de chaque sol de

[22] Si le *sol témoin positif* est un échantillon fortement contaminé prélevé sur le terrain, il est important que son potentiel phytotoxique soit stable dans le temps (c.-à-d. que l'échantillon soit assez ancien pour que sa biodisponibilité se soit stabilisée).

[23] Il se peut qu'un *sol de référence* prélevé sur le terrain ne convienne pas pour certains essais toxicologiques, comme ceux sur des échantillons de boues (section 5) ou sur un *sol enrichi avec une substance chimique* (section 6).

[24] Il est également possible de préparer cette gamme de concentrations à l'aide d'un sol témoin négatif. Une telle décision pourrait être prise si on sait que les *sols de référence* envisagés ne seront probablement pas toxiques dans l'essai envisagé ou si on veut préparer une gamme de concentrations de sol d'essai avec un sol *non contaminé* dont les caractéristiques (p. ex., *texture*, TMO) concordent étroitement avec celles du sol d'essai.

référence utilisé pour préparer une série de concentrations du sol d'essai.

Chaque essai comportant un ou des échantillons de sol de référence doit inclure un échantillon de sol témoin négatif (v. 3.4). Par contre, pour certains essais (comportant, p. ex., une série de concentrations de sol enrichi avec une substance chimique, préparée avec un sol témoin négatif artificiel ou naturel), il n'est pas nécessaire d'inclure un échantillon de sol de référence. Pour les essais sur un sol prélevé sur le site à l'étude, l'approche à privilégier aux fins des comparaisons consiste à inclure un ou des échantillons de sol de référence provenant d'un site voisin (v. 5.6); la décision de diluer un sol de site avec un sol de référence (plutôt qu'avec un sol témoin négatif) au cours de la préparation de la série de concentrations en vue d'un essai à concentrations multiples dépend des objectifs de l'étude.

3.7 Sol d'essai

La présente méthode d'essai biologique a été conçue pour mesurer la toxicité d'un ou de plusieurs échantillons ou mélanges de sol contaminé ou susceptible d'être contaminé (*sol d'essai*), à l'aide de plantes de la région boréale comme organismes expérimentaux. L'échantillon ou les échantillons de sol d'essai peuvent être constitués soit de sol prélevé sur un site industriel ou autre site préoccupant, soit d'un sol dont on envisage l'épandage. Un échantillon de sol d'essai prélevé sur le terrain pourrait être soumis à un essai à concentration unique (c.-à-d. sans dilution aucune, généralement) ou à un essai de toxicité à concentrations multiples qu'on prépare en mélangeant des quantités mesurées de sol d'essai avec un *sol témoin négatif* ou un *sol de référence* (v. section 5)[25]. Le fait de prélever des échantillons de sol par *horizon* permet de tenir compte de la stratification de la contamination attribuable, en partie, à la spéciation des contaminants et à leur mobilité résultante (EC, 2012). C'est pourquoi il faut prélever par horizon les échantillons de sol de référence et de sol contaminé. En laboratoire, les horizons sont reconstitués dans les récipients d'essai proportionnellement à la profondeur qu'ils atteignaient *in situ* (v. 4.1). Toutefois, si on a confirmé la présence de contaminants préoccupants dans un seul *horizon pédologique* (p. ex., l'horizon organique supérieur) à partir de données antérieures sur l'étendue et la nature de la contamination, il faut alors décider si l'essai toxicologique avec des plantes portera sur cet horizon seulement ou sur les horizons reconstitués en laboratoire (v. 5.3). L'échantillonnage des sols dont les horizons pédologiques sont indistincts (p. ex., dont les horizons superficiels ont été mélangés ou perturbés par des activités anthropiques) se fait en fonction de la profondeur (v. 5.1). Le sol d'essai pourrait aussi être constitué d'une ou de plusieurs concentrations d'un *sol enrichi avec une substance chimique*, qu'on prépare en laboratoire en mélangeant une ou des substances chimiques avec un *sol témoin négatif*, un *sol de référence* ou un *sol de site* (v. section 6).

[25] Pour repérer des zones contaminées ou pour caractériser un site, il pourrait être utile de prélever de multiples petits échantillons (p. ex., carottes de sol intact). Même si des carottes de sol ont été mises à l'essai, la méthode n'était pas suffisamment au point au moment de la publication du présent document pour qu'on puisse l'inclure ici en tant que marche à suivre normalisée (EC, 2010). On trouvera toutefois en 4.1 des indications sur l'utilisation de carottes de sol intact.

Modes opératoires universels

Les conditions et modes opératoires universels exposés ci-après pour les essais toxicologiques avec des plantes terrestres de la région boréale s'appliquent aux essais visant à évaluer la toxicité d'échantillons de sol ou de substance chimique, de même qu'aux essais connexes avec un toxique de référence. La section 5 décrit des modes opératoires plus spécifiques pour les essais sur des échantillons de sol ou d'autre matière particulaire semblable prélevés sur le terrain. La section 6 renferme des conseils et décrit des modes opératoires relativement à des essais sur un *sol témoin négatif* ou un sol enrichi (dopé) en laboratoire avec une ou des substances chimiques.

Il faut intégrer dans les modes opératoires universels tous les aspects du système d'essai décrit à la section 3. Les conditions et procédures exposées à la section 2 pour l'entreposage, la manipulation et la *stratification* des graines en vue des essais de toxicité d'un sol s'appliquent également. La liste de contrôle sommaire qui figure au tableau 3 énumère les conditions et modes opératoires exigés et recommandés pour tous les essais sur des échantillons de sol contaminé ou susceptible d'être contaminé ainsi que pour les essais portant sur des types particuliers de substances ou matières d'essai, dont des échantillons de *sol de site* ou de *sol témoin négatif* (ou d'un autre sol, *contaminé* ou *non contaminé*) enrichis en laboratoire.

La présente méthode d'essai biologique permet de mesurer l'inhibition de la *croissance des plantules* d'espèces végétales terrestres de la région boréale, les paramètres biologiques étant la levée des plantules ainsi que la longueur et le poids sec des pousses et des racines. Les organismes expérimentaux sont choisis parmi une liste de sept espèces dont l'utilisation dans la présente méthode a été approuvée (v. 1.2). On doit prélever les échantillons de sol en fonction d'*horizons* distincts qu'on reconstitue dans les récipients d'essai avant la mise en route des essais. Les essais peuvent durer 28, 35 ou 42 jours, selon l'espèce choisie et la *biomasse* dont on a besoin pour mesurer les paramètres (v. 4.3). Les sols d'essai sont hydratés pendant l'essai, mais non renouvelés. La version définitive de la présente méthode a été appliquée et validée par plusieurs laboratoires au cours de trois séries d'essais parallèles sur un sol de référence prélevé sur le terrain et un sol artificiel (auxquels on a exposé des graines d'épinette noire), et sur deux différents sols contaminés prélevés sur le terrain, dilués avec des sols de référence également prélevés sur le terrain (auxquels on a exposé des graines de pin gris et de calamagrostide du Canada) (EC, 2013a)[26].

[26] Dans la première phase des essais de validation interlaboratoires, six laboratoires ont participé à des essais de performance témoins de six semaines comportant l'exposition de graines d'épinette noire à un sol artificiel (SA) et à un sol de référence (SR) à horizons multiples prélevé sur le terrain. Tous les laboratoires ont satisfait aux critères de validité provisoires de l'essai, soit un taux de levée de ≥60 %, des racines de ≥22 mm de longueur et des pousses de ≥20 mm de longueur, dans les deux sols. D'après les données de tous les laboratoires, le taux moyen de levée était de 94 % dans le SA et de 80 % dans le SR. La longueur moyenne des pousses était la même dans les deux sols (soit 28 mm), tandis que la longueur moyenne des racines était de 52 mm dans le SA et de 33 mm dans le SR. Le poids moyen des pousses était semblable dans les deux sols, soit 6,1 mg et 5,3 mg; celui des racines était de 1,8 mg dans le SA et de 0,6 mg dans le SR. La variation interlaboratoire, exprimée sous forme de CV, était faible dans le cas du taux de levée (4 % dans le SA et 10 % dans le SR), mais légèrement plus marquée quant à la longueur des pousses (11 % dans le SA et 20 % dans le SR) et des racines (24 % dans le SA et 33 % dans le SR). Comme prévu, la variation était plus élevée dans le cas du poids sec, les CV allant de 26 % pour le poids sec des pousses dans le SA à 85 % pour le poids sec des racines dans le SR.

Six laboratoires ont participé à la deuxième phase des essais de validation interlaboratoires. Il s'agissait d'essais définitifs de cinq semaines, où des graines de pin gris étaient exposées à un sol contaminé par des saumures, lequel avait été prélevé sur le terrain et dilué avec un sol de référence également prélevé sur le terrain. Seulement quatre laboratoires ont satisfait aux trois critères de validité provisoires établis pour le pin gris (taux de levée de ≥60 %, racines de ≥60 mm de longueur et pousses de ≥43 mm de longueur); leurs essais étaient donc les seuls essais valides de cette série. Toutes les CI_{25} ont été exprimées par rapport au pourcentage de sol contaminé (p. ex., 14 % correspond à un mélange de 14 % de sol contaminé et de 86 % de sol de référence). Les laboratoires ont obtenu un taux moyen de levée de 87 % (CV de 16 %) dans le sol de référence. La CI_{25} moyenne d'après la longueur des pousses était de 15 %; d'un laboratoire à l'autre, elle variait de 8 % à 20 %. La CI_{25} d'après la longueur des racines allait de 3 % à 13 % (moyenne de 6 %). La CI_{25} d'après le poids sec des pousses et des racines, se situait entre 14 % et >25 % et entre 3 % et >25 %, respectivement. Il n'a pas été possible de calculer le CV interlaboratoire de tous les paramètres, étant donné les « plus de (>) » qui accompagnaient les résultats (p. ex., >25 %); toutefois, les CV fondés sur les CI_{25} d'après la longueur des pousses et des racines étaient de 36 % et de 79 %, respectivement.

La troisième phase comportait des essais définitifs de quatre semaines, où des graines de calamagrostide du Canada étaient exposées à un sol contaminé par des hydrocarbures pétroliers, lequel avait été prélevé sur

4.1 Préparation des sols d'essai

Chaque récipient d'essai (v. 3.2.2) de l'installation d'essai doit être codé ou étiqueté clairement afin qu'on puisse identifier l'échantillon (et connaître sa concentration s'il est dilué). Il faut consigner la date et l'heure du début de l'essai, soit directement sur les étiquettes, soit sur des feuilles de données distinctes réservées à l'essai. On devrait disposer les récipients d'essai de manière à faciliter les observations et les mesures. Les *traitements* devraient être répartis au hasard dans l'installation d'essai (EC, 1997a, 1997b, 2004a, 2005a, 2007a) et tournés régulièrement (p. ex., chaque semaine au moment de l'arrosage, ou pendant les observations).

La journée de la mise en route de l'essai, c'est-à-dire le jour où les graines sont mises en contact avec les échantillons de la substance ou matière d'essai (jour 0), il est recommandé de mélanger soigneusement[27] (v. 5.3 et 6.2) chaque échantillon ou sous-échantillon de *sol d'essai* ou de matière particulaire semblable, y compris le *sol témoin négatif* et, le cas échéant, le *sol de référence*, afin d'obtenir un mélange homogène quant à la couleur, à la texture et à l'humidité. Si l'essai est réalisé sur des échantillons de *sol de site*, il est recommandé d'éliminer les pierres, le chaume, les bouts de bois et les débris de grande taille qu'on aura observés avant le mélange, de même que toute végétation ou tout macro-invertébré (v. 5.3). Chaque *horizon* doit être préparé séparément. Si on a prélevé sur le terrain des *échantillons de sol intact* et qu'on a l'intention de les mettre à l'essai dans cet état, ils ne doivent pas être perturbés pendant la durée de l'essai[28].

Les *sols d'essai* sont préparés la journée où l'essai est mis en route (jour 0). Chaque *lot* de chacun des *horizons pédologiques* devrait correspondre à la quantité dont on a besoin pour les *répétitions* que comporte le *traitement* prévu (v. tableau 3), plus une quantité additionnelle pour les analyses physicochimiques à exécuter (v. 4.6) et un surplus afin de compenser le sol inutilisé qui adhère aux parois du récipient servant au mélange. La *teneur en humidité* de chaque sol d'essai devrait être connue ou déterminée. S'il faut l'ajuster, il est recommandé d'ajouter de l'*eau d'essai* (ou, au besoin, de déshydrater le sol) jusqu'à obtention de la teneur souhaitée (v. 5.3 et 6.2). Pour évaluer quantitativement l'homogénéité d'un *lot*, on peut prélever des aliquotes du mélange et en analyser notamment la granulométrie, les teneurs en *COT*, en *matière organique* et en *humidité* ainsi que la concentration de la ou des substances chimiques d'intérêt.

Une fois le *lot* préparé, on en transfère une quantité identique (poids humide) dans chaque récipient de *répétition*. Le volume de chaque *horizon* à disposer en couche dans le récipient d'essai devrait, dans la mesure du possible, être proportionnel à la profondeur de l'horizon *in situ*. Le volume total de sol de chaque récipient d'essai est toujours de ~500 mL (à savoir l'équivalent en poids humide d'un volume de ~500 mL)[29], mais il peut consister en ≥2 couches [un volume convenable (poids

le terrain et dilué avec un sol de référence également prélevé sur le terrain. Ces essais n'ont pas été fructueux, car quatre des cinq laboratoires n'ont pas satisfait à tous les critères de validité provisoires établis pour l'espèce. Malgré des recherches et des essais de suivi, les raisons pour lesquelles il en a été ainsi n'ont pas pu être établies clairement (EC, 2013a).

[27] Tout liquide qui s'est séparé d'un échantillon ou sous-échantillon de sol d'essai pendant le transport et/ou l'entreposage doit y être réintégré.

[28] Les essais sur des carottes de sol n'ont pas été normalisés aux fins de la présente méthode; toutefois, pour certaines études, on peut prélever des carottes selon la méthode décrite dans EC (2012). Les carottes de sol *intact* prélevées à l'aide d'un marteau à coulisse (p. ex., de Halltech Environmental Inc.) sont enfermées dans des manchons en plastique et doivent y rester pendant l'essai. On réfrigère les carottes (à 4 ± 2 °C) jusqu'à la mise en route de l'essai. Avant l'essai, on porte les carottes à la température ambiante, on enlève les couvercles et on retire la végétation ou les racines apparaissant à la surface. Après avoir humidifié la surface du sol, on égalise celle-ci par rapport au haut du manchon, puis on l'incise ou on l'ameublit pour pouvoir y déposer deux graines (peuplier faux-tremble, calamagrostide du Canada, bouleau à papier, pin gris, épinette blanche, épinette noire) ou une graine (verge d'or du Canada). On place ensuite les carottes dans des récipients d'essai (p. ex., récipients en polypropylène de 1 L) qu'on couvre afin de réduire la perte d'humidité. Tous les autres aspects de l'essai sont les mêmes que ceux de l'essai définitif décrit dans la présente section (v. aussi tableau 3). L'utilisation préliminaire de cette méthode est décrite dans des rapports techniques (SRC, 2007, 2009).

[29] Le poids humide de sol requis pour obtenir un volume total de ~500 mL dépend de la teneur en humidité, de la masse volumique apparente et d'autres caractéristiques du sol, et il varie d'un échantillon et d'un horizon à un autre. Afin de déterminer, pour chaque horizon, le poids humide dont on a besoin, on transfère la quantité de sol nécessaire pour remplir un récipient d'essai de 1 L (préalablement pesé ou taré) jusqu'à la marque faite sur la paroi, puis on égalise la surface et on tapote trois fois le contenant sur la table de travail. Ensuite, on mesure et on consigne le poids humide correspondant à cette quantité et on ajoute un poids identique à chaque récipient de *répétition*. On continue de la même façon avec d'autres couches de sol jusqu'à ce qu'on atteigne un volume total de ~500 mL.

humide) de chaque *horizon* étant transféré dans chaque récipient d'essai] dont les proportions correspondent à la profondeur des *horizons pédologiques* choisis pour illustrer le mieux possible les horizons contaminés du lieu de prélèvement du sol d'essai (v. figure 2). Pour lisser le sol (sans le tasser) ajouté à chaque récipient d'essai, il est recommandé d'utiliser une cuillère, de secouer doucement le récipient, à l'horizontale, ou de le tapoter ≥3 fois sur la table de travail ou avec la paume de la main. Pendant la reconstitution des couches, il faut veiller à ne pas mélanger les horizons entre eux.

Figure 2 **Récipients d'essai montrant la superposition des horizons pédologiques : à gauche – podzol prélevé en Ontario (horizons Ah, Ae et B); à droite – brunisol prélevé en Saskatchewan (horizons FH et AeB)** (photo : H. Lemieux)

Pour un essai à concentrations multiples, on mélange chaque horizon de sol d'essai avec l'horizon correspondant du sol témoin négatif ou de référence (v. section 5) à la concentration d'essai voulue (p. ex., 25 %). Dans certains cas, il pourrait être impossible de prélever les mêmes horizons de sol témoin négatif ou de référence et de sol d'essai. Par exemple, un sol témoin négatif peut être prélevé par horizon, mais non pas le sol de site parce qu'un ou des horizons en sont absents ou sont mélangés. Il faut alors préparer les concentrations en mélangeant le poids qui convient de sol d'essai et les horizons disponibles du sol témoin négatif à la concentration voulue (p. ex., 25 %). Le mélange est ensuite disposé en couches dans les récipients d'essai, l'épaisseur de chacune représentant les conditions de terrain ou correspondant aux objectifs de l'essai.

Pour un essai à concentration unique (p. ex., sur un *sol de site* non dilué, sur un sol d'essai à une concentration particulière ou avec une substance chimique à la dose maximale indiquée sur l'étiquette), on doit préparer ≥5 répétitions par traitement, plus 5 répétitions pour le *sol témoin négatif*, chaque récipient contenant un poids humide identique de sol du même *lot* (pour un volume total de ~500 mL). Dans le cas d'un sol de site, les *répétitions* devraient être constituées des *réplicats* prélevés individuellement dans un *lieu d'échantillonnage* donné (v. 5.1). Pour un essai à concentrations multiples, on peut utiliser un nombre égal ou inégal de répétitions pour les différents *traitements*. Si on utilise un nombre égal, il faut préparer ≥4 répétitions par traitement. Dans le cas d'un nombre inégal de répétitions pour les différents traitements (v. 4.8), il est recommandé de préparer ≥6 répétitions pour le sol témoin négatif, 4 pour les 4-6 concentrations d'essai les plus faibles et 3 pour les 5 concentrations d'essai les plus élevées[30]. Pour tout essai définitif visant à estimer la concentration inhibitrice correspondant à un pourcentage d'effet précisé (CI_p) (v. 4.8), on doit préparer ≥9 concentrations plus un sol témoin négatif; il est toutefois recommandé d'en prévoir un plus grand nombre (≥11) pour améliorer la probabilité d'encadrer chaque paramètre[31].

Il est conseillé de choisir une large plage de concentrations, dont une faible ayant des effets similaires à ceux du sol témoin négatif, et une élevée pour laquelle l'effet est « total » ou grave. On commet souvent l'erreur d'anticiper la valeur du paramètre et de l'encadrer au moyen d'une série de concentrations très rapprochées qui peuvent

[30] On peut utiliser un plus grand nombre de répétitions et les répartir également entre les différents traitements (≥4 répétitions par traitement); toutefois, avec un plan de régression non équilibré (c.-à-d. un nombre inégal de répétitions pour les différents traitements), le niveau d'effort reste comparable à celui d'un modèle d'analyse de la variance (ANOVA) quant au nombre total de récipients par essai (Stephenson, 2003a; EC, 2005b).

[31] Il est nécessaire de préparer un nombre élevé de traitements d'essai pour mettre en évidence la forme de la relation concentration-réponse et choisir le modèle de régression linéaire ou non linéaire qui convient. De plus, ce nombre élevé contribue au succès du calcul de la CI_p par ordinateur et augmente la probabilité d'obtenir une valeur (EC, 2005b).

Tableau 3. Liste de contrôle des conditions et modes opératoires recommandés et exigés pour les essais toxicologiques définitifs avec des plantes de la région boréale

Universel		
Type d'essai	–	essai de toxicité sur un sol entier, en conditions statiques
Durée de l'essai	–	• 28 jours pour le peuplier faux-tremble et la calamagrostide du Canada • 35 jours pour la verge d'or du Canada, le bouleau à papier et le pin gris • 42 jours pour l'épinette blanche et l'épinette noire
Espèces expérimentales approuvées	–	• angiospermes dicotylédones : peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*), bouleau à papier (*Betula papyrifera*) • angiosperme monocotylédone : calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*) • gymnospermes : pin gris (*Pinus banksiana*), épinette blanche (*Picea glauca*), épinette noire (*Picea mariana*)
Nombre de concentrations	–	≥9, plus un sol témoin négatif; nombre recommandé : ≥11, plus un sol témoin négatif
Nombre de répétitions	–	essai à concentration unique (p. ex., sol de site non dilué) : • ≥5 répétitions par traitement essai à concentrations multiples : • ≥4 répétitions par traitement, nombre égal de répétitions essai selon un plan de régression, nombre inégal de répétitions : • 6 répétitions pour le sol témoin négatif • 4 répétitions pour les 4-6 concentrations expérimentales les plus faibles • 3 répétitions pour les 5 concentrations expérimentales les plus élevées
Nombre de graines par récipient	–	• 5 graines par récipient pour le peuplier faux-tremble, la calamagrostide du Canada, la verge d'or du Canada et le bouleau à papier • 10 graines par récipient pour le pin gris, l'épinette blanche et l'épinette noire
Sol témoin négatif	–	selon le plan et les objectifs de l'étude; sol *non contaminé* prélevé sur le terrain pour les essais sur un sol de site; les échantillons sont prélevés par horizon, puis les horizons sont reconstitués dans les récipients d'essai en fonction de leur profondeur *in situ*; sol témoin naturel pour les essais sur un sol enrichi avec une ou des substances chimiques
Récipients d'essai	–	récipients en polypropylène (1 L), couverts pendant toute la durée de l'essai; couvercle remplacé par un récipient d'essai renversé ou autre récipient convenable si les plantes atteignent le haut du récipient
Quantité de sol par récipient d'essai	–	poids humide identique équivalant à un volume de ~500 mL; poids sec de ~350 g s'il s'agit d'un sol artificiel
Teneur en humidité du sol d'essai	–	pour préparer le sol, l'hydrater jusqu'à obtention du pourcentage optimal de sa CRE s'il a été prélevé sur le terrain (v. 5.3) ou à ~70 % de la CRE s'il s'agit d'un sol artificiel; chaque horizon est préparé séparément; pendant l'essai, hydrater le sol pour maintenir l'humidité et la texture grumeleuse qu'il avait au début de l'essai ou s'il semble sec
Température ambiante	–	constante, à 24 ± 3 °C, ou de 24 ± 3 °C le jour et de 15 ± 3 °C la nuit
Humidité ambiante	–	peut être maintenue à ≥50 % dans la zone d'essai, mais cette condition n'est pas essentielle, car les récipients d'essai sont munis d'un couvercle pendant tout l'essai
Éclairage	–	fluorescent, spectre continu : reproduire le spectre de la lumière naturelle (p. ex., VitaLux® de Duro-Test®); 300 ± 100 µmol/(m^2 · s) en un point adjacent à la surface du sol; photopériode de 16 h

Arrosage	–	vaporisation d'une quantité restreinte d'eau d'hydratation sur la surface du sol afin de maintenir l'humidité et la texture grumeleuse du début ou lorsque le sol semble sec
Mesures	–	teneur en humidité du sol de chaque traitement/concentration au début de l'essai; pH de chaque traitement/concentration au début et à la fin de l'essai; température dans l'installation d'essai : quotidiennement ou en continu; intensité lumineuse une fois pendant l'essai; pH et teneur en humidité mesurés dans chaque horizon
Observations	–	nombre de plantules levées dans chaque récipient à la fin de l'essai; longueur et poids sec des pousses/racines à la fin de l'essai; nombre de plantes levées dont l'aspect est atypique (p. ex., *chlorose*, lésions) à la fin de l'essai
Paramètres biologiques	–	nombre de plantules dans chaque récipient à la fin de l'essai; longueur de la pousse la plus longue et de la racine la plus longue à la fin de l'essai; poids sec de l'ensemble des structures pousse-racine (séchées au four à 90 °C jusqu'à obtention d'un poids constant) à la fin de l'essai; facultatif : poids humide des pousses et des racines à la fin de l'essai
Paramètres statistiques	–	taux moyen (± ET) de levée dans le sol témoin (critère de validité) à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42); longueur moyenne (± ET) des pousses et des racines les plus longues dans chaque traitement à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42); poids sec moyen (± ET) des pousses et des racines dans chaque traitement à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42); essai à concentrations multiples : CI_p 28, 35 ou 42 jours d'après la longueur moyenne des pousses, la longueur moyenne des racines, le poids sec moyen des pousses et le poids sec moyen des racines, pour chaque concentration, à la fin de l'essai
Critères de validité de l'essai	–	essai invalide si, dans le sol témoin négatif, on obtient **une** des valeurs suivantes à la fin de l'essai : · levée : taux moyen de <60 % pour chacune des espèces · longueur moyenne des racines : <35 mm pour le peuplier faux-tremble <17 mm pour la calamagrostide du Canada <80 mm pour la verge d'or du Canada <53 mm pour le bouleau à papier <62 mm pour le pin gris <36 mm pour l'épinette blanche <24 mm pour l'épinette noire · longueur moyenne des pousses : <10 mm pour le peuplier faux-tremble <35 mm pour la calamagrostide du Canada <7 mm pour la verge d'or du Canada <26 mm pour le bouleau à papier <44 mm pour le pin gris <26 mm pour l'épinette blanche <20 mm pour l'épinette noire
Essai avec un toxique de référence	–	doit être exécuté au moins une fois tous les deux mois ou parallèlement à un ou des essais définitifs sur des échantillons de sol; utiliser de l'acide borique comme toxique de référence; préparer et mettre à l'essai ≥5 concentrations plus un sol témoin négatif, en utilisant un sol artificiel comme substrat; ≥3 répétitions par concentration; 5 ou 10 graines par répétition (selon l'espèce); suivre les conditions et modes opératoires établis pour les essais avec un toxique de référence décrits en 4.9; déterminer le taux de levée dans les sols témoins et la CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours (selon l'espèce) d'après la longueur des racines (avec les limites de confiance à 95 %); exprimer en milligrammes d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec)

Sol prélevé sur le terrain

Transport et entreposage	–	utiliser un récipient en plastique rempli à ras bord et le fermer hermétiquement; transporter à l'abri de la lumière (p. ex., dans une glacière, un seau en plastique ou un autre récipient opaque); les échantillons ne doivent pas geler ou surchauffer pendant le transport; entreposer dans l'obscurité à 4 ± 2 °C; procéder aux essais de préférence dans les deux semaines, obligatoirement dans les six semaines suivant le prélèvement, sauf si la stabilité des contaminants du sol a été établie
Sol témoin négatif	–	sol naturel non contaminé prélevé sur le terrain (de préférence) ou sol artificiel pour lequel on a démontré, au cours d'essais antérieurs avec des plantes, que tous les critères de validité des essais pouvaient être satisfaits de façon régulière
Sol de référence	–	un ou des échantillons pour les essais sur un sol prélevé sur le terrain ou un sol artificiel; idéalement, sol prélevé dans un ou des sites présumés non contaminés, mais à proximité des lieux d'échantillonnage du sol d'essai; caractéristiques (p. ex., TMO, granulométrie et pH) semblables à celles du ou des sols d'essai
Caractérisation des sols d'essai	–	exigences minimales : composition granulométrique (pourcentage de sable, de limon et d'argile), teneur en COT, TMO, pH, conductivité, teneur en humidité, CRE, azote, phosphore, potassium, ratio C/N, CEC; facultatif : cations et anions majeurs, contaminants préoccupants (p. ex., métaux, HAP, pesticides)
Préparation des sols d'essai	–	au besoin, enlever à l'aide de pincettes les débris et les macro-organismes indigènes; si nécessaire, presser le sol à travers un tamis à mailles appropriées (p. ex., 4-10 mm); mélanger; déterminer la teneur en humidité du sol; hydrater avec de l'eau désionisée ou distillée (ou déshydrater selon le cas) jusqu'à obtention du pourcentage optimal de la CRE du sol (v. 5.3); mélanger; essai à concentrations multiples : diluer avec le sol témoin négatif ou de référence; s'assurer que le mélange est homogène

Sol enrichi avec une ou des substances chimiques

Sol témoin négatif	–	sol *non contaminé* prélevé sur le terrain (recommandé)
Caractérisation de la ou des substances chimiques	–	avant de procéder à l'essai, obtenir des données sur la stabilité, la solubilité dans l'eau, la pression de vapeur, la pureté et la biodégradabilité de la ou des substances
Solvant	–	eau désionisée (de préférence); si on utilise un solvant organique, l'essai doit inclure un témoin sol-solvant
Préparation des mélanges	–	le mode opératoire dépend de la nature de la ou des substances d'essai ainsi que du plan d'expérience et des objectifs de l'essai; les mélanges de sol et de substance chimique peuvent être préparés manuellement ou à l'aide d'un agitateur mécanique; la ou les substances d'essai peuvent être ajoutées en quantités mesurées dans une solution (eau ou solvant organique), directement sous forme de substance liquide ou de matière solide partiellement ou entièrement composée de la ou des substances d'essai; s'assurer que le mélange est homogène; horizons enrichis séparément
Concentration de la ou des substances chimiques ajoutées	–	en règle générale, mesurée dans chaque horizon pédologique au début et à la fin de l'essai, en trois titres au moins : élevé, moyen et faible

s'avérer trop faibles ou trop élevées. Pour disposer d'une large plage de concentrations tout en obtenant des effets importants au centre de la plage, il pourrait être nécessaire de prévoir des *traitements* additionnels afin de subdiviser plus finement la plage choisie. Dans tous les cas, il est recommandé d'employer une série géométrique régulière. On trouvera dans EC (2005b) de plus amples indications sur le choix des concentrations d'essai aux fins de la présente méthode.

4.1.1 Essai préliminaire

Lorsque l'incertitude entourant la toxicité d'un échantillon est appréciable, il est souvent avantageux de procéder à un *essai préliminaire* à la seule fin de choisir des concentrations plus rapprochées à utiliser dans l'essai *définitif*. Les conditions et modes opératoires de l'essai préliminaire sont similaires à ceux de l'essai définitif (v. tableau 3), mais le schéma expérimental est différent.

L'*essai préliminaire*, qui peut être moins long que l'essai définitif, fait appel à ≥6 concentrations de la substance chimique ou du sol d'essai, réparties sur une plage plus étendue[32], et à seulement 2 répétitions par traitement. Les espèces expérimentales doivent être les mêmes que celles utilisées dans l'essai définitif (v. 2.1); le nombre de graines par répétition devrait être identique également (v. tableau 3 et sous-section 4.2). Le sol témoin négatif, la température ambiante, l'éclairage, la teneur en humidité du sol, l'arrosage et les mesures pendant l'essai sont les mêmes que pour l'essai définitif (v. tableau 3). La longueur des pousses et des racines peut être utilisée pour prévoir les concentrations auxquelles se manifesteront les effets *sublétaux* (paramètres de croissance) dans l'essai définitif[33]. Dans la plupart des cas, les paramètres de croissance dans l'essai définitif correspondront à des concentrations plus faibles que dans l'*essai préliminaire* en raison de la plus longue durée de l'essai définitif. Le nombre de plantules levées à la fin de l'essai préliminaire devrait aussi être observé et consigné afin de déterminer si, dans l'essai définitif, les critères de validité pour la *levée* des plantules seront vraisemblablement satisfaits (v. 4.4).

4.2 Mise en route de l'essai

Une fois le *sol d'essai* transféré dans chaque récipient, on choisit à l'aide d'un microscope (illuminé par le dessous) 5 ou 10 graines (selon l'espèce; v. 2.1) dans une aliquote de graines stratifiées pendant un laps de temps approprié. Les graines de peuplier faux-tremble n'étant pas stratifiées, on les sort du congélateur juste avant le semis (p. ex., 10-15 min). On place les graines dans ou sur le sol de chacun des récipients d'essai disposés par ordre croissant de concentration d'essai. Pour les espèces nécessitant seulement 5 graines par récipient d'essai (peuplier faux-tremble, calamagrostide du Canada, verge d'or du Canada, bouleau à papier), on en met une au centre et on l'entoure de 4 graines à égale distance. Pour le pin gris, l'épinette blanche et l'épinette noire, qui exigent 10 graines par récipient d'essai, on place 9 graines à égale distance de la graine centrale. À l'aide de pincettes, on enfonce les graines de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire à une profondeur correspondant à deux fois leur diamètre. Pour recouvrir les graines avec le substrat d'essai, on tapote celui-ci avec une spatule en acier inoxydable ou une tige en verre[34]. Les graines de peuplier faux-tremble, de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada et de bouleau à papier ont besoin de lumière pour germer. C'est pourquoi on doit les presser sur la surface du sol. Après avoir déposé les graines dans chaque récipient d'essai, on hydrate le sol en pulvérisant de l'*eau d'hydratation* sur la surface à l'aide d'un pulvérisateur à brouillard fin. Il faut ajouter suffisamment d'eau pour obtenir une teneur en humidité du sol proche de la saturation

[32] La gamme appropriée de concentrations expérimentales pour un sol d'essai enrichi avec une substance chimique pourrait comprendre 1000, 100, 10, 1, 0,1 et 0,01 mg de substance par kilogramme de sol, ou un multiple courant de ces valeurs. Aux fins d'un essai à concentrations multiples sur un échantillon de sol contaminé (ou susceptible d'être contaminé) prélevé sur le terrain, les concentrations qui conviennent pour un essai préliminaire pourraient être de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 et 3 % (Stephenson et coll., 2001; EC, 2005b).

[33] L'effet sur la croissance des plantules peut être observé dans la *biomasse* aérienne de celles-ci; toutefois, les paramètres relatifs aux racines sont souvent plus sensibles que ceux relatifs aux pousses. C'est pourquoi il est recommandé de mesurer la longueur tant des pousses que des racines dans un essai préliminaire afin d'accroître la probabilité que la plage de concentrations choisie pour l'essai définitif encadre les paramètres relatifs aux pousses et aux racines.

[34] Pour éviter toute variation dans la profondeur à laquelle les graines sont enfoncées — ce qui pourrait faire varier le taux de levée —, il est suggéré de procéder comme suit dans le cas des graines de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire : au cours de la préparation de chaque répétition, réserver une fraction (~10 %) du sol qui doit être transféré dans les récipients d'essai. Une fois le sol transféré, égaliser délicatement sa surface et y disposer les graines comme il est indiqué dans la présente sous-section. Un gabarit en plastique comportant des trous légèrement plus gros que le diamètre des graines est utile pour répartir uniformément de très petites graines dans le récipient d'essai.
Une fois les graines réparties également, ajouter le reste du sol (les ~10 % réservés) pour recouvrir les graines à une profondeur uniforme. Reprendre la procédure pour chacune des répétitions [G. Lazarovits, Agriculture et Agroalimentaire Canada, London (ON), comm. pers., 2004].

(v. 4.5). Après l'hydratation, les couvercles (v. 3.2.2) devraient être placés sur les récipients d'essai afin de réduire au minimum les pertes d'humidité.

4.3 Conditions d'essai

- Il s'agit d'un essai de toxicité d'un sol d'une durée de 28, 35 ou 42 jours, qui ne comporte aucun renouvellement du sol dans les récipients d'essai. L'essai dure 28 jours dans le cas du peuplier faux-tremble et de la calamagrostide du Canada; 35 jours dans le cas de la verge d'or du Canada, du bouleau à papier et du pin gris; 42 jours dans le cas de l'épinette blanche et de l'épinette noire (deux essences dont la *phytomasse* est moins importante et/ou qui mettent plus de temps à germer).
- Le récipient d'essai est un contenant en polypropylène transparent de 1 L renfermant un volume total de 500 mL de sol d'essai (horizons pédologiques) et muni d'un couvercle en polypropylène transparent (v. 3.2.2).
- Pour un essai à concentration unique sur un sol prélevé sur le terrain (sol de site non dilué), on devrait mettre à l'essai 5 *réplicats* prélevés dans chaque *lieu d'échantillonnage*. Si un seul réplicat est prélevé dans un lieu d'échantillonnage ou si une concentration donnée de sol ou de substance chimique est mise à l'essai, on doit prévoir ≥5 *répétitions* dans chaque cas (c.-à-d. chaque traitement). Pour un essai à concentrations multiples, il est recommandé d'utiliser un nombre inégal de répétitions pour chaque concentration d'essai et chaque témoin, selon la concentration et le traitement. Si le nombre de répétitions est égal pour tous les traitements, on devrait préparer ≥4 répétitions par traitement; s'il est inégal, il faudrait prévoir ≥6 répétitions pour le sol témoin négatif, 4 répétitions pour les 4-6 concentrations d'essai les plus faibles et 3 répétitions pour les 5 concentrations d'essai les plus élevées (v. 4.1 et la note de bas de page n° 30).
- L'essai doit se dérouler à une température ambiante moyenne constante de 24 ± 3 °C ou à des températures moyennes de 24 ± 3 °C le jour et de 15 ± 3 °C la nuit si la température de l'installation peut être réglée selon ce cycle (v. 3.1).
- Les récipients d'essai doivent être éclairés selon une *photopériode* de 16 h. Il est recommandé d'utiliser des lampes fluorescentes à spectre continu ou un éclairage équivalent reproduisant le spectre de la lumière naturelle (p. ex., VitaLux® de Duro-Test®). L'intensité lumineuse en un point adjacent à la surface du sol dans chaque récipient d'essai doit être de 300 ± 100 µmol/(m^2 · s) (ce qui équivaut à 18 750 ± 6 250 lux) (v. 3.3).

4.4 Critères de validité des essais

Pour qu'un essai soit valide, il doit satisfaire à chacun des trois critères suivants[35] :

1) Taux moyen de *levée* dans un sol témoin négatif, à la fin de l'essai :

   ≥60 % pour chacune des espèces

2) Longueur moyenne des racines pour chaque espèce de plante cultivée dans un sol témoin négatif, à la fin de l'essai :

   ≥35 mm pour le peuplier faux-tremble
   ≥17 mm pour la calamagrostide du Canada
   ≥80 mm pour la verge d'or du Canada
   ≥53 mm pour le bouleau à papier
   ≥62 mm pour le pin gris
   ≥36 mm pour l'épinette blanche
   ≥24 mm pour l'épinette noire

[35] Les critères de validité présentés ici sont fondés sur les données témoins recueillies dans le cadre des nombreuses études réalisées pendant la mise au point de la méthode. Ces études comportaient divers toxiques de référence, dont l'acide borique et des sols contaminés par des sels et des hydrocarbures, de même que neuf différents types de sols témoins négatifs (v. annexe F) (SRC, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC et SRC, 2007; EC, 2010, 2013b). Le *CV* calculé à partir de toutes les données utilisées pour établir les critères de validité des essais quant aux taux de levée variait de 10 % pour le bouleau à papier à 21 % pour la verge d'or du Canada. En ce qui concerne la longueur des pousses dans les sols témoins, le CV allait de 10 % pour l'épinette blanche à 61 % pour la verge d'or du Canada; quant à la longueur des racines, il allait de 26 % pour la verge d'or du Canada à 39 % pour la calamagrostide du Canada. On considère que la plupart de ces degrés de variation sont acceptables sur le plan de la précision intralaboratoire et interlaboratoire. Certains des CV plus élevés calculés pour la longueur des pousses et des racines d'espèces données sont attribuables à la variation de la croissance observée dans les huit sols naturels passablement différents et le sol artificiel ayant servi à établir les critères de validité (EC, 2013b).

3) Longueur moyenne des pousses pour chaque espèce de plante cultivée dans un sol témoin négatif, à la fin de l'essai :

≥10 mm pour le peuplier faux-tremble
≥35 mm pour la calamagrostide du Canada
≥7 mm pour la verge d'or du Canada
≥26 mm pour le bouleau à papier
≥44 mm pour le pin gris
≥26 mm pour l'épinette blanche
≥20 mm pour l'épinette noire

4.5 Hydratation des sols d'essai

Les *sols d'essai* sont hydratés jusqu'à « quasi-saturation », selon les besoins, tout au long de l'essai. Par hydratation jusqu'à quasi-saturation, on entend l'ajout d'eau à la surface du sol jusqu'à ce qu'on observe une accumulation temporaire (≤1 h) de ~0,5 cm d'eau au fond du récipient d'essai. L'*eau d'hydratation*, à 24 ± 3 °C, devrait être pulvérisée sur la surface du sol à l'aide d'un flacon pulvérisateur à brouillard fin le jour 0, immédiatement après le semis[36]. Par la suite, on ajoute une quantité restreinte d'eau (p. ex., au besoin seulement) afin de maintenir jusqu'à la fin de l'essai l'humidité et la texture grumeleuse du sol (v. 4.6)[37]. Il est recommandé de vérifier l'état du sol quelques jours après le semis, en particulier si les graines sont déposées sur la surface du sol (peuplier faux-tremble, calamagrostide du Canada, verge d'or du Canada, bouleau à papier), afin de s'assurer que les graines disposent de suffisamment d'humidité pour germer; une pulvérisation d'eau pourrait être nécessaire.

Chaque fois qu'on vérifie les conditions d'humidité du sol ou qu'on ajoute de l'eau dans les récipients d'essai, il est recommandé de déplacer au hasard les récipients d'essai dans l'enceinte à atmosphère contrôlée ou dans la zone d'essai afin que les organismes expérimentaux qu'ils contiennent soient exposés de manière aléatoire à toute variation légère des conditions expérimentales (éclairage, température, humidité ou ventilation) susceptible de survenir dans l'installation d'essai.

4.6 Observations et mesures

Les paramètres biologiques sont la longueur et le poids sec des racines et des pousses à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42, selon l'espèce). Les objectifs de l'étude peuvent comporter la détermination du poids humide des racines et des pousses à la fin de l'essai, mais ces paramètres sont facultatifs. Tout au long de l'essai, il est recommandé d'observer et de consigner le nombre et l'état ou la condition des plantes levées (p. ex., une fois ou plus par semaine, selon les besoins).

Afin de déterminer si le critère de validité relatif au taux de *levée* dans le sol témoin négatif est satisfait (v. 4.4), on doit compter le nombre de plantules levées dans les récipients d'essai témoins à la fin de l'essai. On évalue visuellement la *levée* des plantules en comptant celles qui atteignent 3 mm hors du sol (verticalement ou horizontalement) dans chaque récipient d'essai (figures 3 et 4). Cette mesure va de la tige hors du sol jusqu'à l'extrémité de la feuille la plus longue. Le nombre approximatif de jours nécessaires à la levée complète des plantes varie selon l'espèce (4 jours pour le peuplier faux-tremble et la verge d'or du Canada, 7 pour la calamagrostide du Canada et le bouleau à papier, 10 pour le pin gris, 16 pour l'épinette noire, 18 pour l'épinette blanche).

---

[36] L'ajout d'*eau d'hydratation* avant le semis constitue une pratique acceptable. Dans ce cas, il faut presser sur la surface du sol les graines de peuplier faux-tremble, de calamagrostide du Canada, de verge d'or du Canada et de bouleau à papier, mais ne pas les couvrir de sol. Pour les graines de pin gris, d'épinette blanche et d'épinette noire, on procède comme il est indiqué en 4.2.

[37] La fréquence d'arrosage dépend du taux de perte hydrique du sol et peut varier d'un récipient d'essai à un autre. Le type de sol, sa CRE et sa TMO, la masse racinaire, le développement du feuillage des pousses pendant l'essai et le taux d'humidité dans l'installation d'essai influent sur le taux de perte hydrique. L'arrosage excessif d'un sol argileux peut désagréger la structure du sol, alors qu'un sol très organique pourrait exiger des arrosages plus fréquents. Le régime d'arrosage varie tout au long de l'essai. Étant donné qu'il n'est pas nécessaire d'enlever les couvercles des récipients d'essai, l'arrosage sera peut-être inutile. Cependant, si un arrosage s'impose, on peut pulvériser doucement de l'eau sur la surface du sol à l'aide d'un flacon pulvérisateur et observer (au bout d'une heure) s'il y a « quasi-saturation » (selon la description donnée dans la présente sous-section). À ce moment-là, on peut encore ajouter de l'eau à la surface du sol par pulvérisation. L'utilisation judicieuse d'un flacon pulvérisateur permet d'éviter que le sol superficiel ne soit indûment perturbé (l'intégrité de la structure du sol superficiel est préservée) et assure une répartition uniforme de l'eau à la surface de la colonne de sol dans chaque récipient d'essai. À mesure que la masse racinaire devient appréciable, la perte hydrique directe par évaporation du sol diminue, mais les racines peuvent absorber plus d'eau. On peut alors verser délicatement de l'eau à la surface du sol en prenant soin de ne pas dépasser le point de saturation de la colonne de sol.

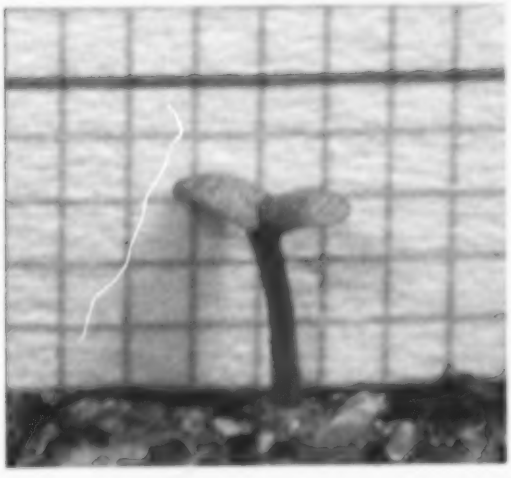


Figure 3 **Début de la levée (4 mm) d'une plantule de peuplier faux-tremble** (papier millimétré en arrière-fond, photo : D. Bolin)

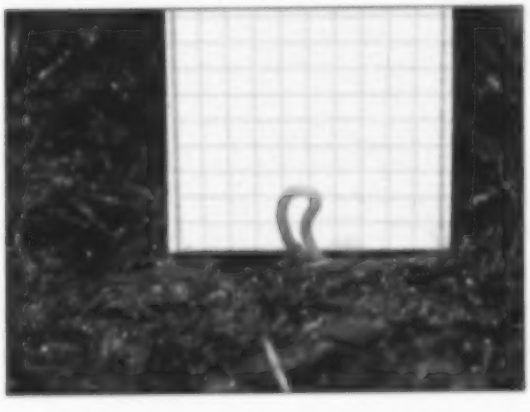


Figure 4 **Début de la levée d'une plantule d'épinette noire** (papier millimétré en arrière-fond, photo : D. Bolin)

Une *évaluation visuelle* de la santé et de l'état des plantes (p. ex., signes de *phytotoxicité*) devrait également être effectuée et consignée lorsque les plantules apparaissent et, par la suite, chaque fois qu'on vérifie (p. ex., chaque semaine) l'humidité du sol des récipients d'essai et/ou qu'on arrose le sol[38]. On pourra ainsi noter les symptômes suivants :

- *chlorose* (perte de pigmentation);
- *nécrose* (tissu mort localisé);
- *défoliation* (perte de feuilles);
- *dessiccation* (feuilles ou tiges desséchées);
- *malformation* (défauts structuraux);
- *marbrure* (taches ou stries);
- *coloration anormale* (décoloration);
- *flétrissement* (amollissement);
- *fanaison* (pendant l'assèchement);
- feuilles ou tiges décolorées ou déformées;
- signes évidents de retard dans la levée;
- perturbation du développement et/ou de la croissance.

Il est normal que les feuilles de peuplier faux-tremble et de bouleau à papier affichent une gamme de couleurs allant du rouge au vert en passant par le rouge verdâtre, selon le type de sol et les conditions d'éclairage. On peut voir, à la figure 8, des feuilles normales de bouleau à papier, qui prennent une teinte rouge dans un sol artificiel, mais qui sont vert vif dans le sol de référence (podzol provenant du Nouveau-Brunswick). Les feuilles de *conifères* peuvent aussi avoir des pointes rougeâtres.

La température ambiante dans l'installation d'essai (v. 3.1) doit être mesurée quotidiennement (p. ex., à l'aide d'un thermomètre maxima/minima) ou en continu (p. ex., à l'aide d'un enregistreur graphique). Le taux d'humidité devrait être mesuré périodiquement (v. 3.1).

Pendant l'essai, le taux de fluence photonique doit être mesuré au moins une fois en plusieurs endroits dans la zone d'essai, de même qu'en des points situés approximativement à la même distance de la source lumineuse que la surface du sol (v. 3.3).

Dans au moins une répétition de chaque *traitement* (y compris le *sol témoin négatif* et, le cas échéant, le *sol de référence*), il faut mesurer et consigner le pH au début et à la fin de l'essai, de même que la *teneur en humidité* au début de l'essai seulement[39], et ce,

[38] À chaque occasion, il faudrait évaluer l'état général des plantes et consigner les observations. Ces observations peuvent être utiles pour l'interprétation des résultats. Ainsi, il est important de noter à quel moment les symptômes de stress (p. ex., flétrissement, décoloration) apparaissent et d'indiquer s'ils empirent ou non. Il est utile de consigner aussi tout signe de phytotoxicité chez les plantes du traitement avec le sol témoin négatif, également en vue de l'interprétation des résultats à la fin de l'essai. Les signes de phytotoxicité peuvent être indicatifs d'effets attribuables à des facteurs physiques tels qu'une source lumineuse trop proche du feuillage, des sols devenus trop secs entre les arrosages, un déficit ou un excès de nutriments [G.L. Stephenson, Aquaterra Environmental, Orton (ON), comm. pers., 2002].

[39] La teneur en humidité des sols d'essai peut être assez variable à la fin de l'essai, selon le temps écoulé entre l'hydratation des sols d'essai et le traitement des récipients à la fin de l'essai. Par ailleurs, étant donné que les récipients d'essai sont arrosés jusqu'à quasi-saturation tout au long

dans chaque horizon pédologique. Les mesures initiales (jour 0) devraient être effectuées sur des sous-échantillons de chaque *lot* du *sol d'essai* utilisé pour préparer les répétitions d'un *traitement* donné (v. 4.1)[40]. Pour les mesures finales (jour 28, 35 ou 42), on utilisera des sous-échantillons des répétitions de chaque traitement (qu'ils renferment un seul horizon ou plusieurs) auquel les plantes ont été exposées, après les observations de la levée, de l'état et de la croissance des plantes à la fin de l'essai.

Le pH du sol devrait être mesuré à l'aide d'une méthode utilisant une suspension dans une solution de chlorure de calcium ($CaCl_2$) (variante d'une méthode décrite dans Hendershot et coll., 1993)[41]. Pour ces analyses, on dépose 4 g de sol hydraté[42] dans un bécher en verre de 30 mL (~3 cm de diamètre et ~7 cm de hauteur) et on ajoute 20 mL de $CaCl_2$ 0,01 *M*[43]. La suspension devrait être agitée par intermittence pendant 30 min (p. ex., toutes les 6 min). On devrait ensuite la laisser reposer pendant ~1 h. On plonge ensuite une sonde à pH dans le surnageant et on consigne la valeur du pH une fois que la valeur indiquée ne change plus.

Pour mesurer la *teneur en humidité* de chaque horizon de *sol d'essai*, on dépose un sous-échantillon de 3-5 g de chaque horizon dans un plateau en aluminium préalablement pesé, puis on mesure et on consigne son poids humide. Chaque sous-échantillon devrait ensuite être placé dans un four de séchage à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant, ce qui demande habituellement ≥24 h. Le poids sec de chaque sous-échantillon devrait ensuite être mesuré et consigné. La teneur en humidité du sol doit être calculée en pourcentage du poids sec du sol à l'aide de la formule suivante :

$$\text{teneur en humidité (\%)} = \frac{\text{poids humide (g)} - \text{poids sec (g)}}{\text{poids sec (g)}} \times 100$$

Il est important que la teneur en humidité soit calculée en fonction du poids sec (et **non** du poids humide) puisque les résultats de ces calculs sont utilisés avec les calculs de la *CRE* (également déterminée en fonction du poids sec) pour exprimer la teneur optimale en humidité des sols d'essai (v. 5.3).

Selon le type d'essai et le plan de l'étude, les concentrations de la ou des substances chimiques préoccupantes pourraient être mesurées, au début et à la fin de l'essai, dans les sols d'essai dilués ou non. Pour un essai sur un échantillon de *sol de site*, la ou les substances chimiques à doser dépendront du ou

---

de l'essai, il n'est pas nécessaire de mesurer la teneur en humidité à la fin de l'essai.

[40] On devrait préparer une quantité additionnelle de sol de chaque lot pour les analyses physicochimiques à effectuer au moment de la mise en route de l'essai (jour 0). Il faudrait aussi prévoir une ou des répétitions supplémentaires de chaque sol d'essai et les déposer dans des récipients d'essai à l'intérieur de l'installation d'essai. Ces répétitions (dans lesquelles des graines ont été ajoutées) devraient être mises de côté pour les analyses physicochimiques à effectuer à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42).

[41] La méthode décrite dans Hendershot et coll. (1993) comporte une étape dans laquelle l'échantillon est séché à l'air pendant 48 h avant la mesure du pH. Les expérimentateurs d'Environnement Canada ont constaté que cette étape est chronophage [K. Doe, Centre des sciences de l'environnement de l'Atlantique, Environnement Canada, Moncton (NB), comm. pers., 2004; J. Prince, LTS, Environnement Canada, Ottawa (ON), comm. pers., 2004] et qu'elle ne modifie pas de façon appréciable le pH par rapport à celui du sol hydraté (c.-à-d. le sol utilisé dans l'essai de toxicité) (Courchesne et coll., 1995; J. Prince, comm. pers., 2004).

Becker-van Slooten et coll. (2004) ont évalué trois méthodes différentes de mesure du pH faisant intervenir une mise en suspension du sol. Environnement Canada était arrivé à la conclusion que de tels essais étaient nécessaires au cours de l'atelier sur la toxicité des sols, tenu en février 2003 à Vancouver (BC). En effet, des participants avaient recommandé qu'une méthode couramment utilisée et « universellement normalisée » de mesure du pH soit incorporée dans chaque méthode d'évaluation de la toxicité d'un sol mise au point par Environnement Canada (EC, 2004a). Les trois méthodes suivantes de mesure du pH du sol ont été comparées : 1) solution aqueuse de KCl 1 *M*; 2) solution aqueuse de $CaCl_2$ 0,01 *M*; 3) eau seulement. Les résultats de cette étude ont montré que chacune de ces méthodes présentait des avantages et des inconvénients. Toutefois, pour des considérations pratiques et compte tenu des recommandations des participants à l'atelier (c.-à-d. que le pH soit mesuré à l'aide d'une méthode largement utilisée), il a été convenu de privilégier la méthode faisant appel à une solution aqueuse de $CaCl_2$ 0,01 *M* dans les méthodes d'essai recommandées par Environnement Canada pour évaluer la toxicité des sols (Becker-van Slooten et coll., 2004).

[42] Il faudra peut-être utiliser un ratio sol-solution de $CaCl_2$ plus bas (p. ex., 2 g de sol pour 20 mL de $CaCl_2$) pour les sols qui ont une forte TMO (c.-à-d. pour les sols où la suspension ne donne pas de surnageant).

[43] Pour préparer une solution aqueuse de $CaCl_2$ 0,01 *M*, dissoudre 2,940 g de $CaCl_2$ dihydraté ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée de 2000 mL. La conductivité de la solution devrait se situer entre 224 et 240 mS/m à 25 °C, et le pH, dans la plage 5,5-6,5 à 25 °C (Hendershot et coll., 1993). Si le pH se situe en dehors de cette plage, il devrait être ajusté à l'aide d'une solution de chlorure d'hydrogène (HCl) ou d'hydroxyde de calcium [$Ca(OH)_2$]. Si la conductivité se situe en dehors de la plage acceptable, on doit préparer une nouvelle solution.

des contaminants préoccupants (v. 5.5). Pour un essai à concentrations multiples sur un *sol enrichi avec une substance chimique*, de telles mesures devraient être effectuées, au minimum, pour les concentrations élevée, moyenne et faible soumises à l'essai (v. 6.3). On devrait prélever des aliquotes de chaque horizon en vue de ces analyses, comme il est indiqué plus haut pour le pH et la teneur en humidité, et les analyses devraient être effectuées selon des techniques éprouvées et reconnues (p. ex., SPAC, 1992; Carter, 1993).

4.7 Fin de l'essai

L'essai prend fin après 28 jours d'exposition des graines de peuplier faux-tremble et de calamagrostide du Canada; après 35 jours dans le cas de la verge d'or du Canada, du bouleau à papier et du pin gris; après 42 jours dans celui de l'épinette blanche et de l'épinette noire. À ce moment-là, le nombre de plantes survivantes dans chaque récipient d'essai devrait être déterminé et consigné; on devrait aussi prendre note de tout aspect anormal de leur morphologie, de leur croissance et de leur développement (par comparaison avec les plantes dans le sol témoin négatif)[44]. On pourrait prendre des photographies pour avoir une représentation visuelle de la relation concentration-réponse dans la *phytomasse* aérienne. Même si aucune pousse n'est visible hors du sol, il est recommandé de vérifier la présence éventuelle de matière racinaire dans le sol, car des racines ont pu se former sans qu'il y ait production de pousses. Ces observations sont consignées à des fins qualitatives seulement [dans la présente méthode d'essai, on considère qu'il y a « levée » (v. figures 3 et 4) lorsque la plantule atteint 3 mm hors du sol (verticalement ou horizontalement)]; si des racines se sont formées sans qu'il y ait production de pousses, cela devrait être pris en note. Une fois ces observations effectuées, chaque récipient d'essai doit être traité séparément afin d'éviter tout contact entre les plantules des diverses répétitions.

Les plantes doivent être séparées avec soin du sol d'essai et des racines des autres plantes. À cette fin, il faut dégager délicatement le sol et la matrice racinaire du récipient d'essai et enlever tout le sol qui peut l'être facilement sans perturber la matrice. Dans certains cas, il sera plus facile de séparer les racines si on arrose le sol jusqu'à saturation et qu'on le laisse s'imbiber pendant plusieurs minutes. Le sol restant et la masse végétale sont déposés dans une cuvette contenant de l'eau. On peut alors rincer les racines sous un jet d'eau du robinet de faible puissance ou utiliser un pulvérisateur d'eau pour déloger délicatement le plus de particules de sol restantes. Cela facilite également la séparation des racines entre elles. Les plantes sont ensuite déposées sur une feuille d'essuie-tout humide étiquetée, à raison d'une feuille par récipient d'essai, et recouvertes d'une pellicule de plastique pour réduire au minimum la perte d'eau jusqu'à ce que les mesures puissent être effectuées et consignées. Dans le cas du peuplier faux-tremble, de la calamagrostide du Canada, de la verge d'or du Canada et du bouleau à papier, on mesure la longueur des pousses et des racines à partir du point de transition que forme l'*hypocotyle* (v. figures 5 à 8) jusqu'à l'extrémité de la pousse ou de la racine la plus longue une fois les feuilles et les racines redressées délicatement. La longueur des pousses et des racines de chaque plante de chaque répétition est mesurée avec une règle millimétrique et consignée. Dans le cas des conifères (pin gris, épinette blanche, épinette noire), on effectue les mesures à partir du point où on observe une transition entre le tissu de la racine et celui de la pousse (p. ex., couleur, différence d'alignement de la tige et texture, dans cet ordre de priorité) (v. figures 9 à 11).

[44] Les plantes survivantes incluent celles qui sont au moins partiellement vertes (en particulier à la base) ou rouges (dans le cas du peuplier faux-tremble et du bouleau à papier), qui ont des pousses de ≥3 mm de longueur et dont l'intégrité est suffisante pour qu'on puisse les retirer du sol, les laver et les mesurer sans qu'elles se désagrègent. On devrait prendre note du nombre de plantes impossibles à mesurer (p. ex., sèches, ratatinées et brunes), mais on doit exclure ces plantes des calculs du taux de levée et de la biomasse à la fin de l'essai.

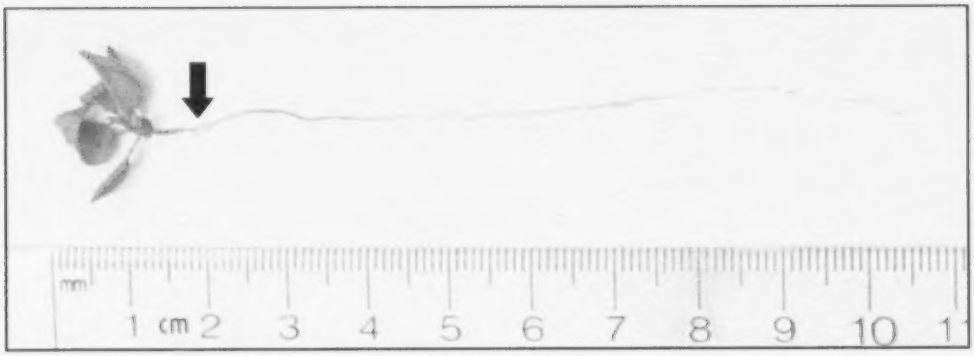


Figure 5. Peuplier faux-tremble – point de transition entre la pousse et la racine (photo : M. Moody)

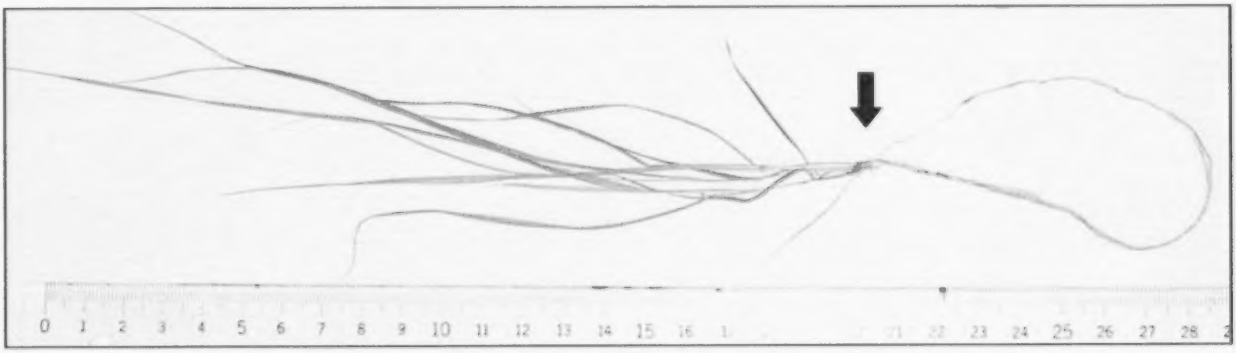


Figure 6. Calamagrostide du Canada – point de transition entre la pousse et la racine (photo : M. Moody)

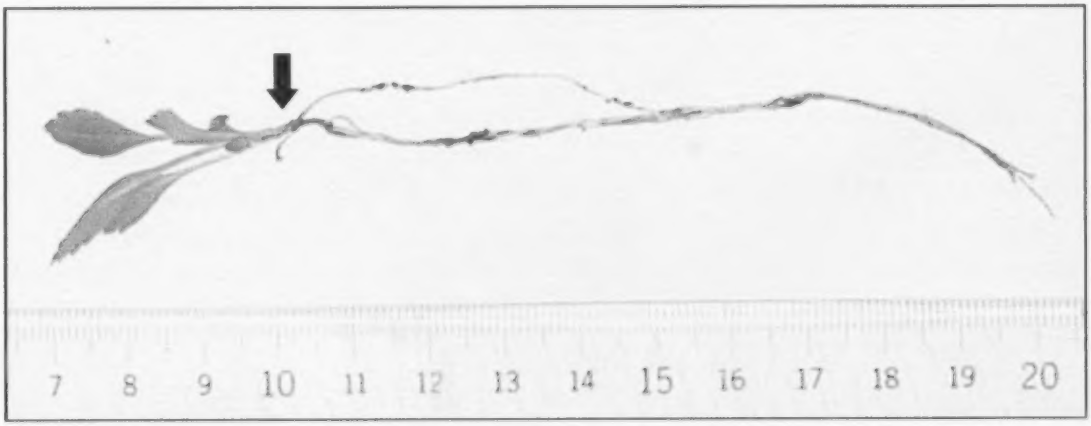


Figure 7. Verge d'or du Canada – point de transition entre la pousse et la racine (photo : M. Moody)

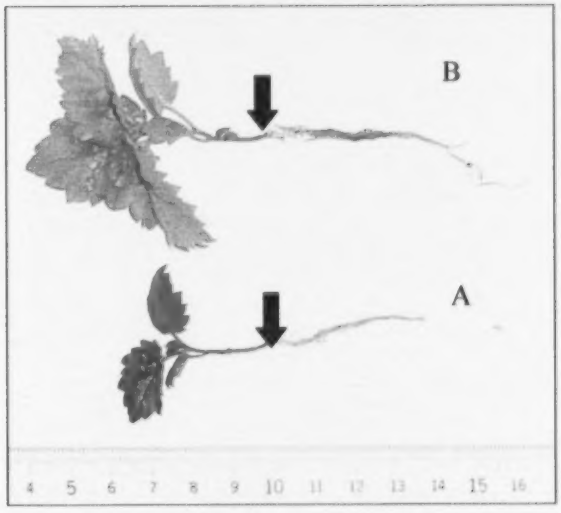


Figure 8. Bouleau à papier – point de transition entre la pousse et la racine et changement de couleur chez des plantules cultivées dans un sol artificiel (A) et dans un podzol provenant du Nouveau-Brunswick (B) (photo : M. Moody)

Figure 9. Pin gris – point de transition entre la racine et la pousse d'après la couleur (photo : M. Moody)

Figure 10. Épinette blanche – point de transition entre la pousse et la racine d'après l'alignement de la tige (photo : M. Moody)

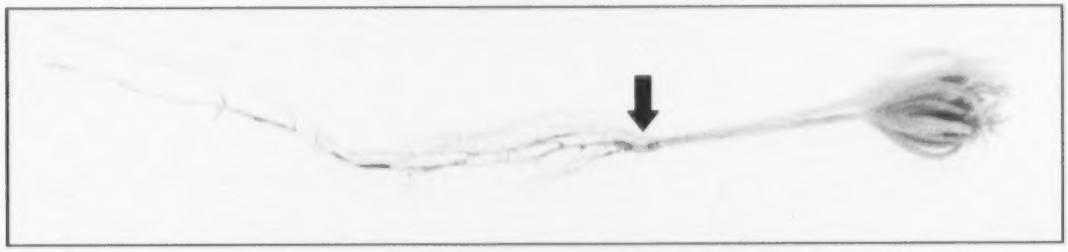


Figure 11. Épinette noire – point de transition entre la racine et la pousse d'après la texture (photo : M. Moody)

À l'aide d'un scalpel, on sépare ensuite les pousses et les racines les unes des autres au point où on peut discerner une transition entre le tissu de la racine et de la pousse et entre ce tissu et la graine elle-même. On élimine la graine restante ou son tégument. Les pousses et les racines de chaque répétition sont pesées séparément, en deux groupes (celui des pousses et celui des racines). L'ensemble de la *biomasse* des pousses rincées de chaque récipient d'essai doit être transféré, en tant que groupe, sur un essuie-tout ou un papier buvard humide, puis déposé dans un plateau de pesée propre en aluminium (1-2,5 g) préalablement numéroté, pesé et séché au dessiccateur[45]. Cette procédure est répétée avec l'ensemble de la *biomasse* des racines (rincées) de chaque récipient d'essai. Il est acceptable de couper le tissu végétal en segments ou de répartir une grande quantité de *phytomasse* dans deux plateaux de pesée ou plus. Si on détermine le poids humide, les plateaux en aluminium contenant les pousses et les racines sont pesés immédiatement à l'aide d'une balance de précision qui mesure un poids de façon constante à 0,1 mg près. Le poids sec doit être déterminé et ce, de façon similaire après séchage des plantes dans un four à 90 °C jusqu'à obtention d'un poids constant (il faut compter habituellement ≥2 4h) (Aquaterra Environmental
et ESG, 2000). À la sortie du four, les plateaux de pesée sont placés immédiatement dans un dessiccateur. Une fois refroidis, ils devraient être retirés du dessiccateur un par un, au hasard, et pesés immédiatement[46] à 0,1 mg près sur une balance de précision. Le poids sec moyen par plante survivante (v. la note de bas de page n° 44) est calculé pour chaque répétition (v. 4.8.2).

Bien qu'Environnement Canada se propose d'utiliser le poids sec moyen des pousses et le poids sec moyen des racines comme critères additionnels de validité des essais définitifs, on ne dispose pas encore de suffisamment de données pour établir des exigences minimales relatives au poids des plantes cultivées dans le sol témoin négatif. Cependant, dans les essais définitifs, il est recommandé de respecter les exigences suivantes :

- Poids sec moyen des pousses par plante survivante de chaque espèce cultivée dans un sol témoin négatif, à la fin de l'essai :

  ≥2,1 mg pour le peuplier faux-tremble
  ≥1,5 mg pour la calamagrostide du Canada
  ≥1,0 mg pour la verge d'or du Canada
  ≥8,9 mg pour le bouleau à papier
  ≥6,6 mg pour le pin gris
  ≥3,0 mg pour l'épinette blanche
  ≥2,3 mg pour l'épinette noire

- Poids sec moyen des racines par plante survivante de chaque espèce cultivée dans un sol témoin négatif, à la fin de l'essai :

  ≥0,4 mg pour le peuplier faux-tremble
  ≥0,4 mg pour la calamagrostide du Canada
  ≥1,1 mg pour la verge d'or du Canada
  ≥1,3 mg pour le bouleau à papier
  ≥2,0 mg pour le pin gris
  ≥0,6 mg pour l'épinette blanche
  ≥0,3 mg pour l'épinette noire

Pendant la série de déterminations du poids sec des groupes de plantes d'un essai donné, le premier plateau de pesée devrait être remis au dessiccateur et pesé de nouveau à la fin de toutes les pesées. On peut ainsi vérifier s'il y a gain séquentiel d'eau des plateaux de pesée dans le dessiccateur au fil du temps, ce qui peut se produire lors du retrait des plateaux pour la pesée. L'écart par rapport au premier poids obtenu ne devrait pas dépasser 5 %; s'il est supérieur à cette valeur, tous les plateaux devraient être séchés de nouveau pendant ≥2 h, puis pesés encore une fois.

Après avoir retiré les plantes de chaque récipient d'essai, on devrait prélever des sous-échantillons de chaque horizon du *sol d'essai* (y compris le *sol témoin négatif* et, le cas échéant, le *sol de référence*) pour la mesure du pH (v. 4.6). Il est également recommandé de mesurer à ce moment-là les concentrations d'autres composants chimiques (concentrations de contaminants) dans des sous-

[45] Si on craint que des dépôts quelconques (p. ex., des dépôts cireux) sur les plateaux de pesée entraînent des erreurs de pesée, il est recommandé de sécher les plateaux au four pendant >48 h afin d'obtenir un poids constant (EC, 1997a, 1997b, 2004a, 2005a, 2007a).

[46] Comme les plantes séchées peuvent absorber facilement la vapeur d'eau, il est recommandé de procéder rapidement pour la pesée et d'uniformiser la durée de l'opération pour l'ensemble des pesées.

échantillons représentatifs de chaque horizon du sol d'essai (v. 4.6)[47].

4.8 Paramètres et calculs

Même si la *levée* ne constitue pas un paramètre statistique de l'essai décrit dans la présente méthode (v. 1.1), il faut recueillir des données sur la levée afin de calculer le poids sec moyen des pousses et des racines de chaque plante et de déterminer si l'essai est valide (d'après le taux de levée dans le sol témoin négatif). À la fin de l'essai (jour 28 pour le peuplier faux-tremble et la calamagrostide du Canada; jour 35 pour la verge d'or du Canada, le bouleau à papier et le pin gris; jour 42 pour l'épinette blanche et l'épinette noire), on doit consigner le nombre de plantules dans chaque récipient. On doit aussi calculer et consigner le taux moyen (± ET) de *levée* pour tous les groupes de plantes de chacun des traitements, y compris le ou les témoins. Si des observations facultatives ont été faites concernant la *levée* (v. 4.6), les résultats devraient être calculés et consignés d'après le taux de *levée* dans chaque récipient d'essai et d'après le taux moyen (± ET) de *levée* pour chaque traitement.

Les paramètres de *croissance* sont fondés sur la longueur des pousses et des racines ainsi que sur le poids sec des pousses et des racines des plantes qui ont survécu (v. la note de bas de page n° 44) dans chaque *répétition* et chaque *traitement*, à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42, selon l'espèce). Le poids humide des pousses et celui des racines constituent des paramètres additionnels (facultatifs, mais recommandés). Une réduction notable de la longueur ou du poids des pousses et des racines est considérée comme indicative d'un effet *toxique* néfaste du traitement sur la croissance des plantes.

Le plus souvent, un plan d'expérience type comporte un des deux scénarios suivants :

1) *Lieux d'échantillonnage* multiples – dans ce cas, on compare les réponses obtenues pour un ou des lieux d'échantillonnage à l'étude avec celles obtenues pour le lieu d'échantillonnage servant de site de référence[48], pour d'autres lieux d'échantillonnage ou pour le sol témoin (essai à concentration unique). On a souvent recours à des tests d'hypothèse dans les évaluations statistiques, et le résultat habituel de ces tests est que, d'un lieu à un autre, la réponse est soit « différente », soit « analogue ».

2) Concentrations multiples d'un sol d'essai – dans ce cas, on mélange le sol d'essai avec un sol de référence ou un sol témoin, ou on l'enrichit avec une substance chimique à diverses concentrations. La CI_p, 28, 35 ou 42 jours de la croissance, mesurée d'après chaque paramètre (c.-à-d. la réduction de la longueur moyenne et du poids sec moyen des pousses et des racines de chaque plante), doit être calculée et consignée (si les données le permettent)[49].

Dans un scénario comportant de multiples *lieux d'échantillonnage*, il est essentiel de bien comprendre les forces de divers plans d'étude pour pouvoir appliquer les tests statistiques d'une manière fructueuse. Il faudrait définir clairement les objectifs de l'étude avant la collecte des données et avoir une

[47] S'il est nécessaire d'imbiber le sol d'eau pour faciliter l'extraction des plantes (v. 4.7, 2e paragraphe), il est recommandé de prélever les aliquotes avant l'imbibition du sol et l'extraction des plantes. On peut aussi préparer des répétitions indépendantes à cette seule fin (v. la note de bas de page n° 40).

[48] Un *site de référence* désigne une zone où on trouve un sol non contaminé, à l'abri de l'influence du contaminant à l'étude (c.-à-d. un sol de référence). Un tel sol devrait être échantillonné aux fins des comparaisons décrites à la section 5. Toutefois, en l'absence d'un sol de référence, on peut utiliser un sol témoin négatif.

[49] Par le passé, les expérimentateurs ont souvent analysé les données *quantitatives* sur la toxicité sublétale obtenues dans des essais à concentrations multiples en calculant la *concentration sans effet observé* (CSEO) et la *concentration minimale avec effet observé* (CMEO). Ces paramètres statistiques comportent plusieurs inconvénients, dont leur dépendance vis-à-vis des concentrations expérimentales choisies et l'impossibilité de fournir une quelconque indication au sujet de la *précision* (en d'autres termes, il est impossible d'établir une limite de confiance à 95 % ou autre) (NERI, 1993; EC, 2005b). Compte tenu de ces inconvénients, la CI_p constitue le paramètre statistique exigé pour les données de croissance obtenues dans un essai à concentrations multiples avec des plantes de la région boréale. Malgré les critiques récentes blâmant la collecte et la publication de données sur la CSEO et la CMEO et reprochant aux organisations gouvernementales et internationales de ne pas rejeter formellement ces approches et cesser de les recommander (van Dam et coll., 2012), Environnement Canada a adopté sans équivoque des méthodes basées sur la régression pour les essais toxicologiques en milieu aquatique, sur des sédiments et sur des sols (EC, 2004a, 2005a, 2005b, 2007a, 2007b, 2007c, 2011a, 2011b; Van der Vliet et coll., 2012).

idée tant de la puissance (capacité de détecter un effet) du plan d'expérience que de la facilité d'interprétation des résultats. En règle générale, on a intérêt à limiter le nombre de comparaisons à faire. À cette fin, on choisit le plus souvent un plan d'expérience et des tests statistiques comportant des comparaisons entre le ou les lieux d'échantillonnage à l'étude et un lieu d'échantillonnage de référence. La puissance du plan d'expérience se trouvera accrue si on peut supposer l'existence d'un gradient (en d'autres termes, les échantillons sont prélevés dans un ordre séquentiel loin de la source ponctuelle de contaminants; v. P.4 dans EC, 2005b). Il arrive parfois que les objectifs de l'étude et le plan d'expérience ne reçoivent pas l'attention voulue avant la collecte de données, ce qui amène l'expérimentateur à comparer, en guise de compensation, tous les lieux d'échantillonnage possibles et à maximiser ainsi le nombre de comparaisons. Cette façon de faire est vivement déconseillée, surtout lorsqu'un nombre élevé de lieux d'échantillonnage est en cause, car : 1) cela peut avoir des effets indésirables sur les taux d'erreur des types I et II; 2) l'interprétation des résultats devient souvent plus difficile; 3) une attention induc peut être accordée à des comparaisons particulières après la collecte des données[50]. On trouvera en 5.6 des indications détaillées sur les tests d'hypothèse applicables à la longueur et au poids sec des pousses et des racines à la fin de l'essai.

Il est recommandé de suivre les explications et les conseils fournis dans EC (2005b) pour le calcul des CI_p; des orientations supplémentaires à ce sujet sont données en 4.8.2 ci-après. Au départ, des techniques de régression (v. 4.8.2.1) doivent être appliquées aux données sur les concentrations multiples qu'on entend utiliser pour calculer une CI_p[51]. Dans le cas où les données ne se prêtent pas au calcul des CI_p 28, 35 ou 42 jours de la croissance à l'aide de l'analyse de régression appropriée, il est recommandé de recourir à une interpolation linéaire de ces données à l'aide du programme ICPIN pour tenter d'obtenir une CI_p (v. 4.8.2.2).

4.8.1 Taux de levée

L'écart moyen et l'écart type du taux de levée des plantules doivent être calculés pour chaque concentration d'essai. On mesure le taux de *levée* dans le sol témoin négatif et on le compare au critère de validité établi pour chaque espèce afin de déterminer la validité de l'essai (v. 4.4). On évalue aussi la levée dans chaque traitement pour calculer le poids sec par plante (v. 4.8.2). Étant donné que le taux de levée n'est pas un paramètre sensible dans les essais avec des plantes de la région boréale, on ne calcule pas la concentration efficace médiane (CE_{50}) ni aucun autre paramètre semblable[52].

4.8.2 CI_p

Lorsqu'on exécute un essai à concentrations multiples pour mesurer les effets de l'exposition de plantes à des mélanges de *sol enrichi* (y compris un sol d'essai dilué avec un sol témoin ou de référence), on doit utiliser les données continues *quantitatives* sur l'inhibition de la croissance (longueur des pousses et des racines, poids sec des pousses et des racines) pour calculer une CI_p pour chacun de ces quatre paramètres, si les données le permettent (v. paragraphes d'introduction des sous-sections 4.8 et 6.2). La CI_p est une estimation quantitative de l'une ou l'autre des concentrations suivantes :

1) concentration causant une réduction de la longueur moyenne des pousses de chaque plante à la fin de l'essai, selon le pourcentage précisé;

---

[50] Zajdlik (2010) fait observer ce qui suit à la défense de l'application d'un test global d'hypothèse : « Trop souvent, un écart dans les données monopolise l'attention de l'analyste, qui entreprend alors d'appliquer un test statistique afin de "valider" cet écart. C'est ce qu'on appelle une surexploitation des données, et les conclusions fondées sur cette approche analytique sont suspectes. » Ce même problème s'observe dans les plans d'étude mal définis.

[51] La régression est la méthode privilégiée pour estimer la CI_p. Elle consiste à ajuster mathématiquement les données à un modèle choisi et à calculer ensuite le paramètre statistique à l'aide du modèle qui décrit le mieux la relation entre la concentration d'exposition et la réponse. Des techniques de régression non linéaire ont été recommandées initialement par Stephenson et coll. (2000) pour diverses raisons, notamment : la relation qui existe entre la concentration d'exposition et la réponse de la plante est généralement non linéaire; l'*hétéroscédasticité* des données est rarement atténuée par transformation; la technique de simulation bootstrap plus courante comporte plusieurs limitations pour ces types de données; la régression non linéaire peut convenir si on est en présence d'un phénomène d'*hormèse*. Lorsqu'on utilise des techniques mathématiques standard, il est possible de décrire correctement une régression en des termes qui fournissent des renseignements utiles à d'autres personnes, de prévoir les effets aux concentrations faible et élevée et d'estimer les intervalles de confiance. Par ailleurs, on peut facilement remédier aux lacunes de la méthode de lissage et d'interpolation (EC, 2005b).

[52] Si les objectifs de l'étude incluent le calcul d'une CE_{50}, le lecteur devrait consulter EC (2005a, 2005b) quant à la marche à suivre.

2) concentration causant une réduction de la longueur moyenne des racines de chaque plante à la fin de l'essai, selon le pourcentage précisé;

3) concentration causant une réduction du poids sec moyen des pousses de chaque plante à la fin de l'essai, selon le pourcentage précisé;

4) concentration causant une réduction du poids sec moyen des racines de chaque plante à la fin de l'essai, selon le pourcentage précisé.

La CI_p est calculée sous forme de pourcentage (précisé) de réduction pour chaque paramètre (p. ex., CI_{25} et/ou CI_{20}, qui correspondent à des taux de réduction de 25 % et/ou de 20 %, respectivement). C'est l'expérimentateur qui choisit la valeur de *p*, mais on privilégie actuellement 25 % et 20 %. On doit également inclure les limites de confiance à 95 % de toute CI_p calculée et consignée.

Dans les analyses relatives à la *croissance*, on groupe les valeurs respectives de la longueur et du poids des pousses ou des racines individuelles de chaque répétition (récipient d'essai), puis on établit les moyennes respectives. Pour la longueur, on mesure la pousse la plus longue et la racine la plus longue de chaque plante survivante (v. la note de bas de page n° 44), puis on calcule la moyenne pour chaque répétition. Pour le poids sec, on calcule le poids moyen des pousses (ou des racines) individuelles de chaque répétition en additionnant le poids sec de toutes les pousses (ou racines) des plantes survivantes dans chaque récipient d'essai et en divisant cette valeur par le nombre de plantes survivantes et mesurables, à la fin de l'essai, dans chaque récipient[53, 54].

On utilise les longueurs moyennes et les poids moyens de toutes les répétitions d'un traitement (concentration) donné pour calculer la moyenne pour ce traitement; la valeur obtenue représente la longueur moyenne et le poids sec moyen des pousses et des racines individuelles des plantes survivantes par concentration. Ces données sont comparées à la longueur moyenne et au poids sec moyen des pousses et des racines individuelles dans le *sol témoin négatif*, obtenus de la même manière. Si aucune plante n'a levé dans une répétition (récipient d'essai), on ne tient pas compte de cette répétition dans le calcul de la moyenne pour le traitement. Si aucune plante n'a levé dans les répétitions correspondant à une concentration donnée, on ne peut calculer aucune longueur moyenne ni aucun poids moyen pour cette concentration, laquelle doit être exclue de l'analyse en vue de la comparaison avec la longueur moyenne ou le poids moyen obtenu pour le sol témoin négatif.

Comme il est indiqué dans les paragraphes d'introduction de la sous-section 4.8, les CI_p d'après la longueur et le poids sec des pousses et des racines individuelles doivent être calculées et consignées séparément (si les données le permettent) une fois l'essai terminé. Ces calculs doivent être effectués à l'aide des méthodes d'analyse de régression linéaire ou non linéaire appropriées (v. 4.8.2.1). Toutefois,

---

[53] On peut aussi analyser la productivité en mesurant pour chaque répétition le poids de toutes les pousses ou de toutes les racines regroupées (sans diviser par le nombre de plantules levées). La productivité étant un indicateur de population qui combine deux effets (c.-à-d. la survie et la croissance), elle se prête moins bien à l'interprétation des données. En outre, si l'expérimentateur veut calculer la « productivité », il peut le faire une fois que les effets individuels ont été déterminés (à savoir après évaluation séparée de la croissance et de la survie) [A. Renoux, SANEXEN Services Environnementaux Inc., Varennes (QC), comm. pers., 2004].

[54] Pour mesurer le poids sec des pousses (ou des racines) individuelles de chaque répétition, on divise le poids sec total des pousses (ou des racines) de chaque répétition par le nombre de plantes qui ont levé dans cette répétition et qui sont mesurables (v. la note de bas de page n° 44) à la fin de l'essai. Par exemple, si 10 graines d'épinette blanche ont été semées dans une répétition donnée, mais que seulement 7 plantes étaient mesurables à la fin de l'essai, le poids sec mesuré pour cette répétition serait égal au poids sec des 7 pousses, divisé par 7. Le même calcul s'applique aux racines ou aux pousses entières perdues (p. ex., celles entraînées dans le conduit d'évacuation) pendant le traitement d'un récipient d'essai. Lorsque des plantes se brisent pendant le traitement des récipients d'essai (c.-à-d. lorsqu'une partie de la pousse ou de la racine se détache), l'expérimentateur devrait faire appel à son jugement professionnel pour déterminer ce qu'il convient d'inclure dans les mesures finales de la longueur et du poids. Si la partie qui s'est détachée de la pousse ou de la racine est récupérée (c.-à-d. si elle n'est pas perdue), on peut l'inclure dans les mesures de la longueur et du poids. Si elle est perdue, la mesure de la longueur de la pousse ou de la racine devrait être exclue du calcul final de la longueur des pousses ou des racines établi pour la répétition. En ce qui concerne les mesures du poids sec, la décision quant à ce qui doit être inclus (ou non) dépend de la proportion estimée de la partie manquante. Par exemple, si la partie de racine manquante représente moins de la moitié de la racine (d'après la longueur des autres racines de la répétition), elle n'aurait pas une incidence globale notable sur le poids sec final par racine et, partant, la portion restante de la racine peut être incluse dans la mesure du poids sec pour cette répétition. Si on estime qu'elle représente plus de la moitié de la racine, cette dernière devrait être exclue de l'analyse du poids (la racine n'est pas séchée ni pesée et le poids sec final « par plante » pour la répétition est calculé en fonction seulement du nombre de racines qui ont été séchées et pesées).

si les analyses de régression fournissent des CI_p inacceptables d'après la longueur et le poids sec des pousses et des racines, il est recommandé d'utiliser le programme ICPIN décrit en 4.8.2.2.

4.8.2.1 Analyse de régression

Une fois terminé l'essai *définitif* à concentrations multiples de 28, 35 ou 42 jours, on doit calculer par analyse de régression les CI_p (et leurs limites de confiance à 95 % respectives) d'après les longueurs moyennes et les poids secs moyens des pousses et des racines individuelles, à la condition que les hypothèses ci-dessous soient satisfaites. Un certain nombre de modèles permettent d'évaluer par régression les données sur la longueur et le poids sec (tests statistiques quantitatifs). Les modèles proposés comprennent un modèle linéaire et les quatre modèles de régression non linéaire suivants : exponentiel, gompertzien, logistique et hormético-logistique[55] (v. 6.5.8 dans EC, 2005b). Pour que les méthodes de régression puissent être utilisées, les données doivent satisfaire aux hypothèses de *normalité* et d'*homoscédasticité*. Il est fortement conseillé de consulter EC (2005b) pour des orientations additionnelles au sujet de l'application générale des techniques de régression linéaire et non linéaire à l'analyse des données toxicologiques *quantitatives*[56].

Pour avoir une représentation visuelle des données et vérifier si les résultats obtenus seront raisonnables par rapport aux calculs statistiques ultérieurs, il est vivement recommandé de commencer par porter sur un graphique les données brutes (poids sec) en fonction du logarithme de la concentration. Il faut résoudre tout écart important entre la CI_p déterminée de façon approximative par la méthode graphique et celle calculée ultérieurement à l'aide d'un programme informatique. Le diagramme permettra également de déterminer si on a obtenu une relation logique entre la concentration logarithmique (ou, dans certains cas, la concentration) et l'effet, une caractéristique souhaitable d'un essai valide (EC, 2005b).

Le processus général applicable à l'analyse statistique et à la sélection du modèle de régression (linéaire ou non linéaire) le plus approprié pour des données toxicologiques *quantitatives* est présenté sous forme de logigramme à la figure 12. Le processus de sélection du modèle commence par l'examen d'un diagramme de dispersion ou d'un graphique linéaire des données d'essai afin de déterminer la forme de la courbe concentration-réponse. On compare ensuite cette forme aux modèles disponibles afin de choisir un ou des modèles convenant le mieux aux données. Ce ou ces modèles sont ensuite examinés plus en détail (v. figure O.1, annexe O de EC, 2005b, pour un exemple de cinq modèles potentiels).

Une fois le ou les modèles appropriés choisis en vue d'un examen plus approfondi, on vérifie les hypothèses de *normalité* et d'*homoscédasticité* des *résidus*. Si les résultats de l'application de la technique de régression à un ou plusieurs des modèles examinés satisfont aux hypothèses, on examine les données (et la régression) afin de détecter la présence éventuelle de valeurs aberrantes. Lorsque c'est le cas, on devrait examiner soigneusement les conditions expérimentales et les notes prises durant l'essai, à la recherche d'une erreur humaine éventuelle. On devrait aussi effectuer l'analyse avec et sans ces valeurs aberrantes et comparer les résultats des deux analyses afin d'évaluer l'effet de ces valeurs sur la régression. On doit ensuite décider s'il convient d'exclure les valeurs aberrantes de l'analyse finale. La décision

[55] On pourrait détecter une réaction hormétique (une *hormèse*) dans les observations d'un effet sublétal correspondant à la ou aux concentrations les plus faibles, c'est-à-dire une amélioration de la performance des organismes qui y sont exposés par rapport à celle des organismes cultivés dans le sol témoin négatif. Par exemple, les plantules cultivées dans un sol à faible concentration peuvent présenter des pousses et des racines plus longues ou un poids sec passablement plus élevé que celles cultivées dans le sol témoin. Il ne s'agit pas d'un défaut dans la conduite de l'essai. On est plutôt en présence d'un phénomène biologique réel. Pour calculer la CI_p lorsque ce phénomène se produit, il est recommandé d'analyser les données à l'aide du modèle hormétique. Les effets hormétiques sont inclus dans la régression, mais ils ne biaisent pas l'estimation de la CI_p. Une CI_{25} estimative représenterait toujours une réduction de 25 % de la performance par rapport à celle observée dans le sol témoin.

[56] Parmi les conseils fournis dans EC (2005b), on compte l'utilisation d'un progiciel de statistiques polyvalent, le SYSTAT, mais c'est dans le CETIS (progiciel conçu pour des fins écotoxicologiques) qu'on trouvera les modèles d'analyse de régression décrits ici. On peut se procurer la dernière version du SYSTAT auprès de SYSTAT Software, Inc., 225 W. Washington St., Suite 425, Chicago, IL 60606, États-Unis; téléphone : 1-877-797-8280; site Web : www.systat.com/products/Systat/. Pour obtenir la dernière version du CETIS, s'adresser à TidepoolScientific Software, P.O. Box 2203, McKinleyville, CA 95519, États-Unis; téléphone/télécopieur : 707-839-5174; courriel : sales@tidepool-scientific.com.

devrait être fondée sur un examen de la variation biologique naturelle et des phénomènes biologiques susceptibles d'être à l'origine de l'apparente anomalie. On trouvera à la sous-section 10.2 de EC (2005b) d'autres indications relatives aux valeurs aberrantes et aux observations inhabituelles. En l'absence de valeurs aberrantes ou si aucune valeur aberrante n'a été exclue de l'analyse finale, le modèle à privilégier est celui qui présente la plus petite erreur quadratique moyenne résiduelle[57]. Il est conseillé de demander l'avis d'un statisticien qui connaît bien la question des données aberrantes.

La *normalité* devrait être évaluée à l'aide du *test de Shapiro-Wilk*, décrit dans EC (2005b). On peut aussi tracer un diagramme de probabilité normale des *résidus* pendant l'analyse de régression, mais il n'est pas recommandé d'utiliser cette méthode en guise de test unique de normalité, car la détection d'une distribution « normale » ou « non normale » fait intervenir une évaluation subjective de la part de l'utilisateur. Si les données ne sont pas distribuées normalement, il est conseillé d'essayer un autre modèle, de demander l'avis d'un statisticien au sujet du choix du modèle ou d'utiliser la méthode d'analyse par interpolation linéaire (à l'aide du programme ICPIN, v. 4.8.2.2), qui est moins souhaitable.

Pour évaluer l'*homoscédasticité* des *résidus*, on devrait utiliser le *test de Levene* décrit dans EC (2005b) et examiner les graphiques des résidus par rapport aux valeurs réelles et prévues (estimées). Le test de Levene indique clairement si les données sont homogènes (p. ex., comme dans la figure O.2A, annexe O de EC, 2005b) ou non. Si les données (selon le test de Levene) présentent une *hétéroscédasticité* (c.-à-d. si elles ne sont pas homogènes), il convient d'examiner les graphiques des résidus. Si on observe un changement important dans la variance et que les graphiques des résidus sont incontestablement en forme d'éventail ou de « V » (on trouvera un exemple à la figure O.2B, annexe O de EC, 2005b), il est recommandé de répéter l'analyse des données à l'aide de la méthode de régression pondérée. Avant de choisir la régression pondérée, on compare l'erreur type de la CI_p à celle obtenue par la méthode de régression non pondérée. Si la différence entre les deux erreurs types est de >10 %[58], la régression pondérée est à privilégier. Toutefois, si la différence entre les erreurs types obtenues par les méthodes de régression pondérée et non pondérée est de <10 %, il convient de demander l'avis d'un statisticien au sujet de l'utilisation d'autres modèles, compte tenu des données d'essai, ou d'analyser de nouveau les données par la méthode d'interpolation linéaire (à l'aide du programme ICPIN, v. 4.8.2.2), qui est moins souhaitable. On compare les régressions pondérée et non pondérée pour chacun des modèles retenus, jusqu'au choix final du modèle (à savoir le modèle et la régression constituant le meilleur choix). L'absence de divergence peut parfois indiquer que le modèle est incorrect ou inapproprié (on trouvera un exemple à la figure O.2C, annexe O de EC, 2005b). Encore une fois, il est fortement conseillé de demander l'avis d'un statisticien au sujet de l'utilisation de modèles additionnels.

Les paramètres estimés par régression doivent être encadrés par les concentrations utilisées dans l'essai; l'extrapolation des paramètres au-delà de la concentration d'essai maximale ne constitue pas une pratique acceptable (EC, 2005b).

[57] On peut aussi utiliser le critère d'information d'Akaike (ou l'équivalent, comme le critère bayésien d'information) pour déterminer le meilleur ajustement du modèle.

[58] Ce pourcentage n'est qu'une valeur empirique. Il existe des tests objectifs pour vérifier l'amélioration apportée par la pondération, mais ils dépassent la portée du présent document. La pondération ne devrait être utilisée qu'en cas de besoin, car elle peut introduire des complications supplémentaires dans la modélisation. Il est recommandé de demander l'avis d'un statisticien lorsque la pondération s'avère nécessaire.

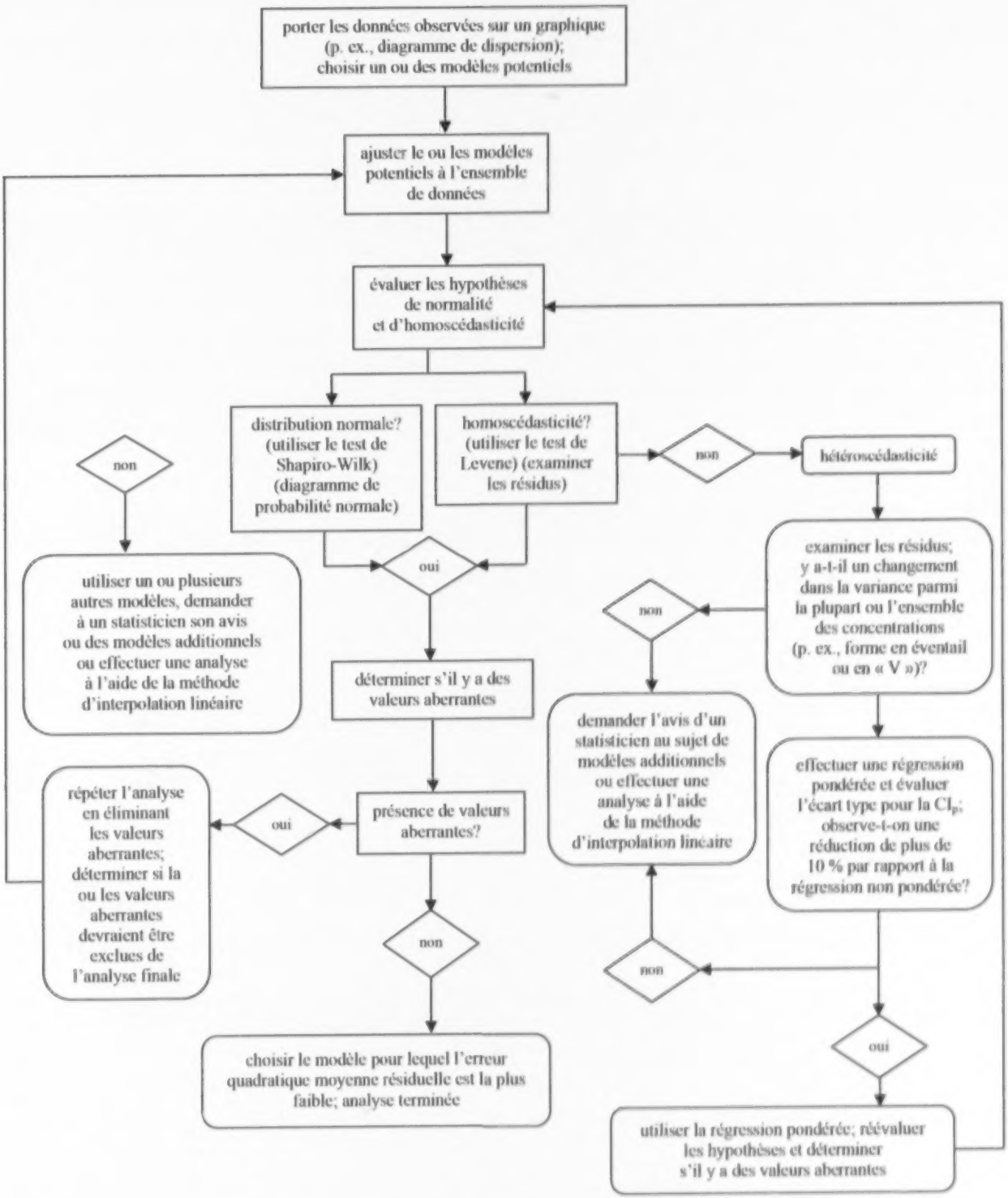


Figure 12. Logigramme du processus général d'analyse statistique et de sélection du modèle le plus approprié pour des données toxicologiques quantitatives (adaptation du logigramme présenté dans Stephenson et coll., 2000)

4.8.2.2 *Interpolation linéaire à l'aide du programme ICPIN*

Si on ne réussit pas à obtenir une valeur acceptable de la CI_p de la croissance (c.-à-d. si les hypothèses de normalité et d'homoscédasticité ne peuvent être satisfaites) à l'aide des analyses de régression des valeurs des paramètres (v. 4.8.2.1), on devrait appliquer la technique de l'interpolation linéaire à l'aide du programme informatique *ICPIN* (v. 6.4.3 dans EC, 2005b). Ce programme public (Norberg-King, 1993; USEPA, 1995, 2002) peut être obtenu auprès de l'USEPA et fait partie de la plupart des progiciels utilisés en écotoxicologie, y compris TOXSTAT (1996). L'USEPA fournit également un mode d'emploi clair qui facilite l'utilisation du programme (Norberg-King, 1993)[59]. (Signalons que le programme ICPIN était autrefois connu sous le nom de BOOTSTRP.)

Pour procéder aux analyses à l'aide du programme ICPIN, il n'est pas obligatoire de faire appel à un nombre égal de répétitions par concentration. On estime la CI_p en lissant au besoin les données, puis en se servant des deux points voisins de la CI_p choisie (USEPA, 1995, annexe L; USEPA, 2002, annexe M). Il est impossible de déterminer la CI_p sans avoir une concentration d'essai plus faible et une autre plus élevée que la CI_p; ces deux concentrations devraient avoir un effet suffisamment rapproché de la valeur choisie de p, de préférence avec un écart de <20 %. Le programme actuel ne comportant pas d'échelle logarithmique pour les concentrations, les utilisateurs canadiens doivent saisir les concentrations sous forme de logarithmes. Certains progiciels du commerce effectuent cette transformation (option générale), mais on devrait s'assurer que les données conservent leur forme logarithmique quand on passe au programme ICPIN. Étant donné que les méthodes habituelles
ne seraient pas valides, le programme ICPIN estime les limites de confiance au moyen d'une technique « bootstrap » spéciale qui permet à l'ordinateur d'effectuer un grand nombre de rééchantillonnages à partir des mesures originelles. L'expérimentateur doit préciser ce nombre, qui peut être compris entre 80 et 1000. On recommande ici qu'il soit de ≥400, mais 1000 serait encore plus souhaitable[60].

S'il y a absence de levée pour plusieurs concentrations élevées adjacentes, seule la concentration la plus faible de la série devrait être utilisée dans l'analyse (c.-à-d. la concentration la plus proche du milieu de la série de concentrations utilisée dans l'essai). Normalement, l'inclusion de concentrations additionnelles ne présente aucun intérêt particulier puisque ces concentrations n'apportent rien à l'analyse (les données consistent seulement en des poids moyens nuls et des longueurs moyennes nulles).

En plus de déterminer et de consigner les CI_p obtenues par ordinateur pour la longueur et le poids de chaque plante à la fin de l'essai, l'expérimentateur devrait construire des diagrammes distincts du pourcentage de réduction tant de la longueur que du poids sec des pousses et des racines de chaque plante en fonction du logarithme de la concentration, et ce, afin de vérifier les estimations mathématiques et de disposer d'une évaluation visuelle de la nature des données (EC, 2005b).

Si le programme ICPIN est utilisé lorsqu'il y a un effet hormétique, une technique de lissage inhérente au programme pourrait changer la valeur témoin et biaiser l'estimation de la CI_p. En conséquence, avant de procéder à l'analyse statistique, il est recommandé de remplacer arbitrairement les valeurs hormétiques aux faibles concentrations par la valeur témoin. Cette façon de procéder est considérée comme un expédient provisoire, tant qu'une meilleure approche ne sera pas mise au point (v. option 4, sous-section 10.3.3 de EC, 2005b). La correction est apportée pour toute concentration d'essai dans laquelle l'effet moyen (c.-à-d. la

[59] Les instructions fournies dans Norberg-King (1993) prêtent parfois à confusion sur ce qu'est une « répétition ». Le terme est utilisé de telle façon qu'il s'appliquerait au nombre ou au poids des organismes individuels d'un même récipient. Ce flou terminologique ne nuit en rien au bon fonctionnement du programme. Certains programmes du commerce se sont avérés moins conviviaux pour la saisie des données et l'analyse.

[60] Étant donné que le programme ICPIN présente certaines lacunes, son utilisation n'est recommandée que dans les cas où la régression ne fournit pas une CI_p acceptable. Sa méthode d'interpolation n'est pas optimale, car elle est sensible aux particularités des deux concentrations utilisées. Le programme ne convertit pas les concentrations en logarithmes, ce qui conférerait une valeur légèrement plus élevée à la CI_p. En modifiant la méthode bootstrap, on a réglé le problème de l'étroitesse de l'intervalle de confiance, mais les méthodes de régression conviennent mieux à l'estimation de la CI_p et ses limites de confiance à 95 % (EC, 2005b) (v. 4.8.2.1).

moyenne géométrique des moyennes des répétitions) est plus grand (« meilleur ») que la moyenne pour le témoin. Aux fins de cette correction, on remplace les poids moyens (ou longueurs moyennes) observés dans les répétitions à la concentration hormétique (il peut y en avoir plus d'une) par la moyenne des répétitions dans le témoin. La moyenne géométrique pour la ou les concentrations en question sera alors identique à celle obtenue pour le témoin.

4.9 Essais avec un toxique de référence

La présente sous-section traite des conditions et modes opératoires applicables aux essais toxicologiques de référence exécutés parallèlement aux essais de *croissance* de 28, 35 ou 42 jours avec des plantes de la région boréale, de même qu'aux essais visant à déterminer si les lots de graines destinés aux essais de toxicité d'un sol sont acceptables et convenables. Ces conditions et modes opératoires devraient par ailleurs être utilisés pour évaluer la *précision* intralaboratoire lorsqu'un laboratoire s'apprête pour la première fois à utiliser la présente méthode d'essai biologique (v. 2.5 et 3.2.1).

Il faut employer systématiquement un *toxique de référence* pour évaluer, dans des conditions d'essai normalisées, la sensibilité relative des lots de graines de plantes de la région boréale destinés aux essais. Les essais avec un *toxique de référence* servent également à démontrer la *précision* et la fiabilité des données obtenues par le personnel du laboratoire pour le toxique en question, dans des conditions d'essai normalisées. Un essai toxicologique de référence réalisé conformément aux conditions et modes opératoires décrits ici doit être effectué selon l'une ou l'autre des fréquences suivantes :

1) au moins une fois tous les deux mois, avec des graines provenant du même lot que celui utilisé pour les essais de toxicité d'un sol sur une longue période (soit au moins deux mois);
2) au moment du ou des essais définitifs de toxicité d'un sol, avec des graines provenant du même lot que celui utilisé pour l'essai ou les essais définitifs (v. 2.5).

Un laboratoire qui effectue souvent des essais de toxicité de sols avec des plantes de la région boréale pourrait choisir de vérifier régulièrement (p. ex., tous les deux mois) la sensibilité des graines à un ou des *toxiques de référence* au moyen d'un essai toxicologique de référence avec une partie du lot de graines utilisé pour un essai toxicologique définitif. Il pourrait aussi choisir de vérifier moins fréquemment la sensibilité des graines et d'effectuer un essai toxicologique de référence parallèlement à chaque essai définitif.

Tout essai toxicologique de référence effectué parallèlement à un essai *définitif* de toxicité d'un sol doit prendre la forme d'un essai de croissance à concentrations multiples *en conditions statiques*. Sa durée varie selon l'espèce : 14 jours pour la calamagrostide du Canada et le pin gris; 21 pour le peuplier faux-tremble et la verge d'or du Canada; 28 pour le bouleau à papier; 35 pour l'épinette blanche et l'épinette noire. Dans chaque cas, on détermine la CI_p d'après la longueur des racines à la fin de l'essai. On trouvera au tableau 4 une liste de contrôle des conditions et modes opératoires recommandés et exigés pour tout essai toxicologique de référence. Les conditions et modes opératoires additionnels décrits dans la présente section pour les essais à concentrations multiples sur des échantillons de *sol d'essai* s'appliquent également aux essais toxicologiques de référence, tout comme les méthodes décrites à la section 6 pour la préparation et la mise à l'essai de substances chimiques servant à enrichir un *sol témoin négatif*. Pour de plus amples renseignements, le lecteur est invité à consulter cette section. Le document d'orientation d'Environnement Canada sur l'utilisation d'un sédiment témoin enrichi (dopé) avec un toxique de référence (EC, 1995) fournit des renseignements utiles qui s'appliquent également aux essais décrits dans la présente sous-section.

Pour l'essai toxicologique de référence, on devrait utiliser des récipients en polypropylène de 1 L (v. 3.2.2), chacun renfermant une aliquote de 500 mL de *sol d'essai* représentant chaque

traitement (concentration). Il faut prévoir ≥3 récipients de répétition par concentration. Quant au nombre de graines par récipient, il est le même que pour les essais définitifs, soit 5 pour le peuplier faux-tremble, la calamagrostide du Canada, la verge d'or du Canada et le bouleau à papier, et 10 pour le pin gris, l'épinette blanche et l'épinette noire (v. tableau 4).

Les procédures de démarrage et de fin d'un essai toxicologique de référence devraient être conformes à celles décrites en 4.2 et 4.7. Les conditions d'essai relatives à la température et à l'éclairage prescrites en 4.3 s'appliquent également. Les observations et les mesures sont les mêmes que celles décrites en 4.6, mais il faudrait déterminer en plus la longueur de chaque racine à la fin de l'essai. On mesure aussi le taux de levée dans le sol témoin négatif aux fins de la validité de l'essai.

Pour que l'essai toxicologique de référence soit valide, le taux moyen de *levée* dans le traitement témoin doit être de :

≥60 % pour chacune des espèces

De plus, à la fin de l'essai, la longueur moyenne des racines pour chaque espèce de plante cultivée dans le sol témoin négatif doit être de :

≥30 mm pour le peuplier faux-tremble
≥51 mm pour la calamagrostide du Canada
≥47 mm pour la verge d'or du Canada
≥48 mm pour le bouleau à papier
≥38 mm pour le pin gris
≥39 mm pour l'épinette blanche
≥26 mm pour l'épinette noire

La CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours d'après la longueur des racines doit aussi être calculée et consignée (avec ses limites de confiance à 95 %). Les résultats d'un essai toxicologique de référence devraient être exprimés en milligrammes de substance chimique de référence par kilogramme de sol (poids sec).

Les critères convenant au choix du toxique de référence qui sera utilisé dans l'essai parallèle à l'essai définitif de toxicité d'un sol incluent les suivants (EC, 1995) :

- facilité d'obtention à l'état pur;
- longue durée de conservation (stabilité);
- possibilité de répartir uniformément la substance dans un substrat *non contaminé*;
- bonne courbe concentration-réponse pour les organismes expérimentaux;
- stabilité en solution aqueuse et dans le sol;
- dangers minimes pour l'utilisateur;
- facilité de dosage de la substance avec précision.

L'essai toxicologique de référence exige ≥6 traitements (un *sol témoin négatif* et 5 concentrations du *toxique de référence*). Il est recommandé d'employer de l'acide borique (H_3BO_3)[61] de qualité réactif comme toxique de référence, mais on peut aussi avoir recours à d'autres substances chimiques si elles s'avèrent convenables[62]. On devrait préparer chaque concentration d'essai conformément aux instructions données en 4.1 et 6.2, en utilisant un *sol artificiel* (v. 3.4.2) comme substrat.

---

[61] On utilise depuis longtemps l'acide borique comme chimiostérilisant du sol, et cette substance s'est avérée un biocide efficace. L'acide borique se dissocie facilement dans l'eau de pH neutre; en plus d'être systémique, il est facilement absorbé et accumulé par les racines des plantes. Il est relativement persistant dans les sols dans les conditions de laboratoire et il ne se photodécompose pas ou ne se volatilise pas facilement (Stephenson et coll., 1997).

[62] Aquaterra Environmental (1998) a réalisé la première évaluation de la performance de l'acide borique en tant que *toxique de référence* pouvant être utilisé en concomitance avec des essais de *toxicité aiguë* visant à mesurer la toxicité d'un sol pour des espèces de plantes terrestres. Des études ultérieures du SRC (2006) et d'Environnement Canada (2010, 2013b) sur un sol artificiel enrichi avec de l'acide borique ont confirmé l'utilité de cette substance comme toxique de référence dans des essais toxicologiques de référence bimensuels avec des plantes de la région boréale.

Tableau 4. Liste de contrôle des conditions et modes opératoires recommandés et exigés pour les essais toxicologiques de référence avec des plantes de la région boréale

Type d'essai	–	essai toxicologique de référence sur un sol entier; en conditions statiques
Durée de l'essai	–	· 14 jours pour la calamagrostide du Canada et le pin gris · 21 jours pour le peuplier faux-tremble et la verge d'or du Canada · 28 jours pour le bouleau à papier · 35 jours pour l'épinette blanche et l'épinette noire
Espèces expérimentales approuvées	–	· angiospermes dicotylédones : peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*), verge d'or du Canada (*Solidago canadensis*), bouleau à papier (*Betula papyrifera*) · angiosperme monocotylédone : calamagrostide du Canada (*Calamagrostis canadensis*) · gymnospermes : pin gris (*Pinus banksiana*), épinette blanche (*Picea glauca*), épinette noire (*Picea mariana*)
Nombre de concentrations	–	≥5 concentrations, plus un sol témoin négatif
Nombre de répétitions	–	≥3 répétitions par concentration
Nombre de graines par récipient	–	5 graines par récipient pour le peuplier faux-tremble, la calamagrostide du Canada, la verge d'or du Canada et le bouleau à papier; 10 graines par récipient pour le pin gris, l'épinette blanche et l'épinette noire
Sol témoin négatif	–	sol artificiel
Récipients d'essai	–	récipients en polypropylène (1 L), qui peuvent être couverts pendant toute la durée de l'essai; couvercle remplacé par un récipient d'essai renversé ou autre récipient convenable si les plantes atteignent le haut du récipient
Quantité de sol par récipient d'essai	–	poids humide identique équivalant à un volume de ~500 mL; poids sec de ~350 g s'il s'agit d'un sol artificiel
Teneur en humidité	–	pour préparer le sol, l'hydrater jusqu'à 70 % de sa CRE; pendant l'essai, hydrater au besoin
Température ambiante	–	constante, à 24 ± 3 °C, ou de 24 ± 3 °C le jour et de 15 ± 3 °C la nuit
Humidité ambiante	–	≥50 % dans la zone d'essai (facultatif)
Éclairage	–	fluorescent, spectre continu : reproduire le spectre de la lumière naturelle (p. ex., VitaLux® de Duro-Test®); 300 ± 100 µmol/(m^2 · s) en un point adjacent à la surface du sol; photopériode de 16 h
Arrosage	–	eau d'hydratation pulvérisée en quantité restreinte sur la surface du sol, au besoin
Mesures	–	teneur en humidité du sol dans chaque traitement/concentration au début de l'essai; pH dans chaque traitement/concentration au début et à la fin de l'essai; température dans l'installation d'essai : quotidiennement ou en continu; intensité lumineuse une fois pendant l'essai
Observations	–	nombre de plantules levées dans chaque récipient à la fin de l'essai; longueur des racines à la fin de l'essai; nombre de plantes levées dont l'aspect est atypique (p. ex., chlorose, lésions) à la fin de l'essai
Paramètres biologiques	–	nombre de plantules dans chaque récipient à la fin de l'essai; longueur de la racine la plus longue à la fin de l'essai
Paramètres statistiques	–	taux moyen (± ET) de levée dans le sol témoin (validité de l'essai) à la fin de l'essai (jour 14, 21, 28 ou 35); longueur moyenne (± ET) des racines les plus longues dans chaque traitement à la fin de l'essai (jour 14, 21, 28 ou 35); CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours d'après la longueur des racines
Validité de l'essai	–	essai invalide si, dans le sol témoin négatif, on obtient une des valeurs suivantes à la fin de l'essai : · taux moyen de levée : <60 % · longueur moyenne des racines : <30 mm pour le peuplier faux-tremble <51 mm pour la calamagrostide du Canada <47 mm pour la verge d'or du Canada <48 mm pour le bouleau à papier <38 mm pour le pin gris <39 mm pour l'épinette blanche <26 mm pour l'épinette noire

Il est recommandé d'appliquer les mêmes conditions et modes opératoires décrits ici dans tous les essais toxicologiques de référence courants (p. ex., ceux effectués tous les deux mois ou parallèlement à chaque essai définitif de toxicité d'un sol) sur un *sol témoin négatif* enrichi avec de l'acide borique. Il est conseillé d'effectuer des essais préliminaires pour choisir une série de concentrations d'essai[63] qui encadre la CI_p et qui permet de calculer la CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours d'après la longueur des racines.

Lorsque suffisamment de données ont été recueillies (EC, 1995), on doit porter successivement sur une *carte de contrôle* toutes les CI_p comparables obtenues à partir des essais avec un *toxique de référence* donné. On doit préparer une carte distincte pour chaque espèce végétale utilisée dans les essais toxicologiques définitifs. Il est conseillé d'examiner chaque nouvelle CI_p du même toxique de référence afin de déterminer si elle se situe dans l'intervalle correspondant à ±2 ET des valeurs obtenues lors d'essais antérieurs avec le même toxique de référence et selon la même méthode d'essai (EC, 2004a, 2005a, 2007a). On doit préparer et mettre à jour une carte de contrôle distincte pour chaque variante (p. ex., espèces végétales différentes ou toxiques de référence différents). Sur chacune de ces cartes, on porte le logarithme de la concentration sur l'axe vertical, et la date ou le numéro de l'essai, sur l'axe horizontal. On devrait comparer chaque nouvelle CI_p du toxique de référence aux limites établies sur la carte; la CI_p est jugée acceptable si elle se trouve à l'intérieur des *limites de contrôle*.

On devrait se servir du logarithme de la concentration (y compris de la CI_p) pour tous les calculs des moyennes et des écarts types et pour tous les diagrammes. On s'assure ainsi que la valeur de chaque paramètre a été estimée en fonction des logarithmes des concentrations. On peut construire la carte de contrôle en reportant les valeurs logarithmiques de la moyenne ±2 ET sur du papier graphique à échelle arithmétique, ou en convertissant ces données en valeurs arithmétiques et en portant ces dernières sur l'échelle logarithmique d'un papier semi-logarithmique. Si les CI_p n'obéissent pas à une distribution log-normale, il pourrait être préférable d'opter pour une moyenne et un écart-type arithmétiques.

Pour chaque CI_p successive du *toxique de référence*, on devrait recalculer la moyenne des valeurs de $\log(CI_p)$ connues ainsi que les limites de contrôle supérieure et inférieure (±2 ET) jusqu'à ce que les statistiques se stabilisent (EC, 1995, 2004a, 2005a, 2007a). Si une CI_p donnée tombe à l'extérieur de ces limites, il convient de mettre en doute la sensibilité des organismes expérimentaux, de même que l'exécution et la précision de l'essai. Étant donné que cette situation peut se produire dans 5 % des cas par le seul jeu du hasard, une CI_p aberrante n'est pas nécessairement un signe de sensibilité anormale

---

[63] ASTM International (ASTM, 2009) recommande une série de dilutions successives à 50 % pour les essais toxicologiques de référence avec de l'acide borique. Plus précisément, l'organisme est d'avis qu'une série de dilutions comprenant 640, 320, 160, 80, 40, 20 et 10 mg d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec) encadrera la sensibilité de la plupart des espèces végétales à ce toxique de référence. Environnement Canada a constaté que certaines espèces ne sont pas sensibles à des concentrations aussi fortes que 640 mg d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec) et recommande donc d'inclure des concentrations plus élevées pour les essais toxicologiques de référence avec cette substance chimique. Une série de dilutions comprenant 2000, 1125, 630, 360 et 200 mg d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec) devrait encadrer la sensibilité de chacune des espèces recommandées ici; toutefois, cette série pourrait être modifiée en fonction de l'espèce visée.

Environnement Canada a procédé, conformément à la méthode décrite ici, à des essais toxicologiques de référence au cours desquels des graines des sept espèces de plantes approuvées ont été exposées à un sol artificiel enrichi avec de l'acide borique. Ces essais ont démontré que la CI_{50} 14, 21, 28 et 35 jours d'après la longueur des racines se situait entre 212 mg (bouleau à papier) et 592 mg (pin gris) d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec) (EC, 2013b). L'annexe G du présent document renferme des conseils sur le choix d'une série appropriée de concentrations d'essai (en supposant une réponse en fonction du logarithme de la concentration) à utiliser dans des essais toxicologiques de référence avec de l'acide borique ou avec d'autres substances.

Dans le cadre d'une série d'études interlaboratoires visant à valider l'essai avec un toxique de référence décrit en 4.9, six laboratoires ont réalisé en parallèle des essais de cinq semaines avec des graines d'épinette noire et des concentrations multiples d'acide borique dont ils ont enrichi un sol artificiel. Les six laboratoires ont satisfait aux critères de validité provisoires établis pour les graines d'épinette noire cultivées dans un sol artificiel enrichi, soit ≥60 % pour la levée et ≥26 mm pour la longueur des racines, de sorte que les données de toute la série d'essais ont été incluses dans l'analyse finale. D'après les données de tous les laboratoires, le taux moyen de levée était de 92 % et la longueur moyenne des racines était de 45 mm dans le sol témoin négatif. La variation interlaboratoire, exprimée sous forme de CV, était de 7 % pour la levée et de 27 % pour la longueur des racines dans le sol témoin négatif. La CI_{50} moyenne 5 semaines d'après la longueur des racines des plantules dans le sol artificiel enrichi avec de l'acide borique était de 555 mg H_3BO3/kg (poids sec), les valeurs individuelles se situant entre 437 et 813 mg H_3BO3/kg (poids sec). Le CV des CI_{50} obtenues par ces laboratoires était de 28 %, ce qui correspond à une *précision* interlaboratoire acceptable (EC, 2 013a).

des graines ou d'une précision insatisfaisante des données toxicologiques. Ce serait plutôt un avertissement. On devrait procéder à un examen approfondi de toutes les conditions et de tous les modes opératoires appliqués. Selon les constatations, on pourrait devoir reprendre l'essai toxicologique de référence ou se procurer de nouvelles graines avant d'entreprendre d'autres essais de toxicité d'un sol.

Le fait que les résultats soient tous à l'intérieur des limites de contrôle n'est pas nécessairement un gage de la cohérence des résultats obtenus par le laboratoire. Des données historiques extrêmement variables pour un *toxique de référence* donné élargiraient ces limites; ainsi, une nouvelle donnée simple pourrait se trouver à l'intérieur des limites, tout en représentant une variation indésirable des résultats de l'essai. Environnement Canada (EC, 1995, 2005b) propose comme limite raisonnable un CV de ≤30 %, de préférence de ≤20 %, pour la moyenne des valeurs de log(CI_p) connues (v. paragraphe précédent). Aux fins de la présente méthode d'essai biologique, on recommande d'adopter un CV de ≤30 % pour les données historiques moyennes dérivées d'essais toxicologiques de référence avec de l'acide borique.

Les concentrations du *toxique de référence* dans toutes les *solutions mères* devraient être mesurées au moyen d'analyses chimiques appropriées [p. ex., méthodes d'analyse faisant intervenir la spectrophotométrie d'émission atomique à l'aide d'un plasma induit par haute fréquence (SEA/PIHF), pour la concentration du bore]. Pour préparer les concentrations d'essai du toxique de référence, on ajoute une quantité mesurée de *solution mère* au sol témoin négatif[64] et on mélange soigneusement[65]. Une fois les mélanges de toxique de référence et de sol préparés, il est recommandé de prélever des aliquotes au moins du sol témoin négatif et des concentrations faible, moyenne et élevée[66]. Chaque aliquote devrait être soit analysée immédiatement, soit conservée en vue d'une analyse ultérieure (à la fin de l'essai) si la CI_p établie d'après la longueur des racines et calculée en fonction des concentrations nominales se situe en dehors des limites de contrôle. Le cas échéant, les aliquotes doivent être entreposées dans l'obscurité à 4 ± 2 °C. Ces aliquotes devraient être analysées peu de temps après la fin de l'essai toxicologique de référence. Le calcul de la CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours d'après la longueur des racines devrait se fonder sur les concentrations mesurées si celles-ci sont passablement différentes (soit de ≥20 %) des valeurs nominales et si la précision des analyses chimiques est satisfaisante.

Si on utilise de l'acide borique comme *toxique de référence*, la méthode d'analyse décrite ci-après s'applique (MEEO, 1996). Un sous-échantillon de 1-5 g de sol enrichi avec de l'acide borique est séché à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant. On extrait ensuite une aliquote de 1 g à l'aide d'une solution de $CaCl_2$ 0,01 *M* en faisant bouillir une suspension de sol dans 50 mL de cette solution d'extraction et en ajoutant une quantité supplémentaire de cette solution pour rajuster le volume final à 50 mL. L'extrait de 50 mL est ensuite filtré à travers un filtre Whatman n° 4, puis dilué jusqu'à obtention d'un volume final de 100 mL. Un échantillon témoin est préparé de la même manière.

---

[64] On trouvera en 6.2 un exemple des quantités d'eau désionisée ou distillée et d'acide borique qui doivent être ajoutées au sol artificiel pour préparer un traitement en vue d'un essai toxicologique de référence avec une concentration donnée d'acide borique dans un sol artificiel. Les calculs indiqués dans cet exemple montrent la quantité d'eau nécessaire pour ajuster la teneur en humidité du sol artificiel à un pourcentage donné (70 %) de la CRE du sol, en tenant compte du volume de la *solution mère* d'acide borique utilisé dans l'ajustement global de la teneur en humidité du sol.

[65] Une méthode reconnue consiste à ajouter un volume calculé au préalable de *solution mère* (à l'aide de pipettes volumétriques et/ou graduées) dans un flacon Erlenmeyer, à diluer jusqu'à un trait de jauge avec de l'eau désionisée et à ajouter ensuite au sol un volume mesuré de cette préparation. On rince ensuite le flacon trois fois à l'eau désionisée et on ajoute la rinçure au sol, après quoi on amalgame soigneusement (pendant ~3 min) le mélange de sol et de solution mère à l'aide d'un agitateur mécanique (p. ex., un malaxeur à main avec des fouets en acier inoxydable) jusqu'à obtention d'un sol d'aspect homogène quant à la couleur, à la texture et à la teneur en humidité. Pendant le mélange, le sol que contient le bol du malaxeur devrait être brassé par intermittence à l'aide d'une grosse cuillère en acier inoxydable afin de faciliter l'homogénéisation.

[66] Si la CI_p de chaque essai avec un toxique de référence doit être fondée sur des concentrations mesurées, il est recommandé de prélever et d'analyser une ou des aliquotes du mélange de substance chimique et de sol représentant chaque concentration d'essai. Toutefois, si les paramètres de chaque essai sont fondés sur les concentrations nominales, on devrait prélever et analyser des aliquotes des concentrations faible, moyenne et élevée à tout le moins.

On analyse ensuite le filtrat par la méthode SEA/PIHF afin de doser le bore élémentaire. On calcule la concentration d'acide borique dans le sol à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{acide borique (mg/kg, poids sec)} = \frac{\mu\text{g B/mL (mesuré)} \times V_f\text{ (mL)} \times PM_{ab}/PM_{bore} \times 10^6}{1000\ (\mu\text{g}) \times \text{poids de l'échantillon (mg, poids sec)}}$$

où :

V_f = volume final
PM = poids moléculaire
ab = acide borique

Dans la plupart des cas, le seuil de détection pour l'acide borique dans le sol est de 1 mg d'acide borique par kilogramme de sol (poids sec) (Stephenson, 2003b).

Modes opératoires particuliers pour la mesure de la toxicité d'un sol ou d'une matière particulaire semblable prélevé sur le terrain

La présente section contient des directives particulières sur la préparation et la mise à l'essai d'échantillons de sol (de site) ou de matière particulaire semblable prélevés sur le terrain. Ces directives s'ajoutent à celles énoncées à la section 4.

Des instructions détaillées sur le prélèvement, la manipulation, le transport, l'entreposage et la préparation d'échantillons de sol aux fins d'essais biologiques sont fournies dans EC (2012). Ce document décrit les modes opératoires généraux applicables aux préparatifs entourant l'échantillonnage, dont les suivants : établissement des objectifs de l'étude; délimitation de la zone d'étude; collecte de données documentaires; levés du site, levés pédologiques et classification écologique du sol; choix des stratégies et des lieux d'échantillonnage; détermination du nombre et de la taille des échantillons à prélever; établissement de procédures adéquates d'*assurance et de contrôle de la qualité* (AQ/CQ); facteurs à prendre en considération en matière d'environnement, de santé et de sécurité; conception de plans d'échantillonnage. Des indications y sont également fournies quant au choix des échantillonneurs, au prélèvement d'échantillons par *horizon* ou en fonction de la profondeur, à la manipulation des échantillons *in situ*, au choix des récipients à échantillon et au transport des échantillons. On trouve aussi dans EC (2012) les procédures que doit suivre le personnel lors de la réception, de la préparation (séchage, humectation, tamisage, broyage, homogénéisation, reconstitution, caractérisation) et de l'entreposage d'échantillons de sol destinés à des essais biologiques. On y indique également la marche à suivre et les points à examiner en fonction de la nature des contaminants (comme des composés volatils ou instables), des exigences des essais biologiques et des objectifs de l'étude. Des conseils sont fournis sur l'échantillonnage, la manipulation, le transport, l'entreposage et la préparation d'échantillons de sol d'écozones de la forêt boréale, de la taïga et de la toundra, de même que de sols organiques et de sols prélevés dans des milieux humides. On devrait consulter EC (2012) et suivre les indications qui y sont fournies (en plus de celles que renferme le présent document) lorsqu'on prélève sur le terrain des échantillons de sol en vue d'essais toxicologiques avec des plantes de la région boréale.

5.1 Prélèvements d'échantillons

On trouvera dans EC (2012) de nombreux conseils sur les plans d'échantillonnage et les techniques de prélèvement d'échantillons sur le terrain. Ces conseils partent du principe selon lequel on dispose de données sur la caractérisation des propriétés chimiques et pédologiques du lieu à l'étude. Les études sur le terrain de la toxicité d'un sol au moyen d'essais biologiques avec des plantes terrestres et/ou d'autres organismes expérimentaux associés au sol (p. ex., EC, 2004a, 2005a, 2007a) font souvent partie d'examens plus vastes englobant l'évaluation et l'*assainissement* de lieux contaminés (p. ex., Callahan et coll., 1991; Menzie et coll., 1992; Saterbak et coll., 2000; Stephenson et coll., 2008; EC, 2012). Ces examens incluent fréquemment une *batterie d'essais* au cours desquels on évalue la toxicité d'un sol en faisant appel à plus d'un type d'essai et plus d'une espèce expérimentale et qu'on assortit d'essais sur la bioaccumulation de contaminants, d'analyses chimiques, de relevés biologiques de l'épifaune et/ou de l'endofaune et, parfois, d'une compilation de données géologiques et hydrographiques. Cette approche intégrée peut fournir de l'information plus exacte sur le *risque* associé à la contamination du sol aux fins de l'*évaluation du risque écologique* et de la gestion des lieux contaminés (EC, 2012). On peut améliorer les corrélations statistiques des évaluations et réduire les coûts en prélevant simultanément tous les échantillons requis pour ces divers essais, analyses et collectes de données.

On pourrait prélever les échantillons de sol qui seront utilisés dans la présente méthode d'essai biologique (section 4) selon une fréquence régulière (trimestrielle, semestrielle ou annuelle) sur un

certain nombre de sites contaminés ou susceptibles d'être contaminés, à des fins de *surveillance* et de vérification de la *conformité* aux règlements. Les échantillons pourraient aussi être prélevés une seule fois ou à diverses occasions, dans le cadre d'études sur le terrain, pour définir la qualité spatiale (horizontale ou verticale) ou temporelle du sol. Les essais biologiques (de toxicité) servent de plus en plus à tous les niveaux de l'évaluation du risque. Selon les objectifs précis de cette évaluation et l'état d'un lieu contaminé, on peut utiliser les données toxicologiques propres à un site pour combler différents besoins, dont les suivants :

- repérer, au moyen d'une analyse préalable du sol, les zones hautement toxiques ou présentant une toxicité sublétale;
- identifier un sol de site (par suite de la détermination de la concentration du ou des contaminants de ce sol) ayant un impact toxique;
- évaluer les effets toxiques létaux ou sublétaux d'un sol contaminé;
- cerner les caractéristiques du sol qui modifient la biodisponibilité;
- établir (en partie) des normes et/ou des objectifs d'assainissement propres au site;
- évaluer l'efficacité des techniques de biorestauration et/ou d'assainissement du site;
- surveiller à long terme un lieu assaini (EC, 2012).

EC (2012) renferme d'autres conseils concernant l'application des essais biologiques dans l'évaluation des lieux contaminés, de même que de nombreuses indications sur la définition des objectifs des études et sur l'établissement d'un plan d'étude intégrant des essais biologiques dans l'évaluation et la gestion d'un lieu contaminé. Un plan d'étude précise les méthodes et stratégies d'échantillonnage ainsi que la marche à suivre pour satisfaire à tous les *objectifs de qualité des données* (OQD). Il renferme notamment les renseignements suivants : OQD; définition de la zone d'étude; collecte de données documentaires; choix et emplacement des lieux d'échantillonnage; choix des stratégies d'échantillonnage; procédures d'*AQ/CQ*; facteurs à prendre en considération en matière d'environnement, de santé et de sécurité. La stratégie d'échantillonnage (c.-à-d. le processus par lequel on détermine le type d'échantillons à prélever, le lieu du prélèvement et la méthode de prélèvement) repose avant tout sur les objectifs de l'étude et, accessoirement, sur les caractéristiques du site (pour plus de détails, v. EC, 2012).

Le nombre de lieux d'échantillonnage et le nombre de *réplicats* à prélever dans chacun sont propres à chaque étude. Le nombre d'échantillons à prélever dépend des objectifs de l'étude, des OQD, du degré souhaité de certitude et de facteurs propres au site. En outre, le nombre de réplicats à prélever est fonction du schéma expérimental applicable aux essais biologiques et, dans la plupart des cas, de contraintes logistiques et budgétaires (p. ex., temps et coûts). On peut recueillir divers types d'échantillons (*ponctuels*, *composites* et *en vrac*), selon les objectifs de l'étude.

Pour les essais biologiques, on prélève habituellement des *échantillons de sol perturbé* – dans ce type d'échantillonnage, les particules du sol se dissocient pendant le prélèvement. Par contre, lorsqu'on prélève des *échantillons de sol intact* (c.-à-d. des carottes), les particules de sol et la structure des pores demeurent inchangées. La marche à suivre pour le prélèvement d'échantillons de sol intact aux fins d'essais biologiques est décrite dans EC (2012) et abordée brièvement à la sous-section 4.1 de la présente méthode. Il convient toutefois de préciser que les indications fournies ici s'appliquent principalement au prélèvement d'échantillons de sol perturbé.

EC (2012) décrit les modes opératoires propres à la collecte, à la manipulation et à la préparation des échantillons de sol contaminé par des composés volatils ou instables, de même que les modifications applicables à la collecte, au transport, à l'entreposage et à la préparation de ces échantillons et aux analyses de leurs contaminants. En se conformant à ces modes opératoires, on réduira au minimum la perte de ces contaminants, que ce soit pendant l'échantillonnage et la manipulation des sols sur le terrain, le transport des échantillons au laboratoire d'essais toxicologiques ou la période précédant les essais (c.-à-d. pendant l'entreposage,

la manipulation ou la préparation des échantillons). Les questions connexes aux procédures d'AQ/CQ sont également abordées dans EC (2012).

Pour certaines activités de *surveillance* et d'application réglementaire, on devrait prélever des réplicats multiples (c.-à-d. 5 réplicats ou sous-échantillons d'échantillons ponctuels ou en vrac provenant du même endroit) à chaque *lieu d'échantillonnage*, y compris sur un ou des lieux de référence. Ces réplicats[67] fournissent des renseignements sur la variation de la toxicité ou de la biodisponibilité des contaminants du lieu à l'étude et permettent d'établir des comparaisons statistiques sur la toxicité du sol de plus d'un site (EC, 2005b). On peut mesurer la toxicité, pour des plantes de la région boréale, de chacun de ces « vrais réplicats » de sol en tant que réplicat individuel (un seul récipient d'essai par réplicat) ou multiple (plus d'un récipient d'essai par réplicat; v. 5.6.1). Le recours à l'analyse de puissance (v. 5.6.2) à partir des valeurs des paramètres obtenues dans des essais antérieurs de même type, effectués sur des échantillons provenant du même site ou de sites similaires, permettra de déterminer le nombre de réplicats (prélevés sur le terrain et/ou de laboratoire) à mettre à l'essai. Certains tests statistiques requièrent un nombre minimal de réplicats. Dans d'autres situations (p. ex., des études préliminaires ou exhaustives sur la répartition spatiale de la toxicité), le plan expérimental pourrait exiger un seul réplicat par lieu d'échantillonnage, auquel cas l'échantillon (y compris le sol de référence et/ou témoin) doit être homogénéisé et réparti dans 5 récipients de répétition (ou réplicats de laboratoire). Cette dernière approche ne permet pas d'établir la toxicité moyenne en un lieu d'échantillonnage donné, de sorte qu'on ne peut déterminer si un lieu d'échantillonnage est différent du lieu témoin ou de référence, ou de tout autre lieu d'échantillonnage. Cela dit, lorsqu'on utilise les tests statistiques appropriés (v. 5.6.1), on peut comparer statistiquement la toxicité de l'échantillon en question à celle de l'échantillon témoin ou de référence, ou à celle d'échantillons provenant d'autres endroits. Il est important de retenir que toute conclusion au sujet de possibles différences, établie à partir de l'évaluation d'échantillons distincts non assortis de réplicats prélevés sur le terrain, ne doit pas servir à tirer d'autres conclusions concernant les lieux d'échantillonnage.

Quels que soient les objectifs de l'étude, on devrait échantillonner un ou des *sols de référence* (qu'on présume *non contaminés*) parallèlement à chaque échantillonnage de sol de site (v. 3.6)[68]. Les échantillons de *sol de référence* devraient être prélevés là où le sol présente des propriétés géochimiques semblables à celles du sol du site à l'étude. Voici certaines des plus importantes propriétés physicochimiques qui devraient être appariées pour ces deux types de sols : composition granulométrique, teneur en *COT*, *TMO*, *pH*, *conductivité* et *fertilité*. De plus, on pourrait apparier d'autres propriétés, comme la CEC, le carbone inorganique total, le *potentiel d'oxydoréduction* et la CRE (EC, 2012). Dans les cas où la *pollution* (attribuable, p. ex., à des boues d'épuration ou industrielles) est responsable de la teneur élevée en carbone organique des sols d'essai, il pourrait ne pas être indiqué d'apparier la teneur en COT ou la TMO. Pour faciliter le choix des sites d'échantillonnage d'un sol de référence approprié, il est utile de procéder à des études préliminaires afin d'évaluer la toxicité et les propriétés géochimiques du sol de la ou des régions préoccupantes et de lieux voisins. On trouvera dans EC (2012) d'autres conseils sur l'échantillonnage d'un sol de référence aux fins d'essais biologiques, de même que les procédures à suivre lorsqu'on ne peut trouver un tel sol.

On peut également prélever des échantillons de sol ou d'autre matière particulaire semblable dont on envisage l'épandage sur le sol, afin d'en évaluer

[67] Un *réplicat* est un échantillon prélevé sur le terrain à un même lieu d'échantillonnage afin d'obtenir une estimation de l'erreur d'échantillonnage ou pour améliorer la justesse de l'estimation. Lorsqu'un seul échantillon de sol est prélevé, il est traité comme un réplicat. Les échantillons additionnels provenant du même lieu d'échantillonnage sont considérés comme des réplicats supplémentaires – ils sont traités de la même façon, mais entreposés dans des récipients à échantillon distincts (ils ne sont pas regroupés).

[68] Idéalement, les échantillons de *sol de référence* sont prélevés près du ou des sites préoccupants. Ce sol devrait posséder des caractéristiques physicochimiques (p. ex., *texture*, teneur en carbone organique, *TMO*, pH) semblables à celles du ou des *sols d'essai* prélevés sur le terrain, mais être exempt des contaminants à l'étude. Il n'est pas rare que des sites de référence adjacents soient eux aussi contaminés, jusqu'à un certain point, par des substances chimiques anthropiques. Le sol de référence peut parfois se révéler toxique ou être inutilisable dans un essai de toxicité d'un sol à cause de ses propriétés physiques, chimiques ou biologiques naturelles.

la toxicité et les propriétés physicochimiques. EC (2012) renferme des indications sur les points précis à prendre en considération en vue de l'échantillonnage d'amas de déchets.

Un plan d'échantillonnage constitue un élément essentiel du plan d'étude. On y décrit les procédures détaillées à suivre pour prélever, manipuler et préparer les échantillons *in situ* (au besoin) et pour les emballer, les étiqueter, les entreposer (le cas échéant) et les transporter. Avant l'échantillonnage, il est important d'avoir en main une description complète du sol à échantillonner. De plus, les sols devraient être décrits en détail à l'échelle du site à l'étude. Au Canada, les sols sont classés selon le Système canadien de classification des sols (SCCS). Ceux échantillonnés aux fins d'essais biologiques devraient être classés au moins jusqu'à l'échelle du sous-groupe du SCCS, conformément aux indications fournies dans EC (2012). On trouvera à l'annexe E de EC (2012) des informations détaillées sur le SCCS et sur les éléments fondamentaux de l'identification taxinomique des sols.

Les modes de prélèvement d'échantillons (*ponctuels*, *en vrac* ou *composites*) dépendent des objectifs de l'étude et de la nature du sol (ou autre matière particulaire semblable) à échantillonner. On utilise fréquemment une pelle, une tarière ou un carottier (de préférence en acier inoxydable) pour prélever les échantillons. Les pelles et les truelles sont les outils le plus couramment utilisés pour prélever d'importants volumes de sol; toutefois, il faut s'assurer que l'échantillon est représentatif et exempt de biais (p. ex., les prélèvements se font à la même profondeur ou dans le même *horizon*). Les carottiers, emporte-pièce, cadres de coupe et échantillonneurs cylindriques sont des instruments plus précis, mais ils conviennent moins à l'extraction d'importants volumes de sol. Pour prélever des échantillons en profondeur, il serait plus efficace et moins exigeant en main-d'œuvre d'utiliser une tarière. Les dispositifs d'échantillonnages les plus courants et les procédures à suivre pour échantillonner un sol sont décrits dans EC (2012).

Au Canada, la plupart des sols des écozones forestières ou non agricoles sont fortement stratifiés en *horizons pédologiques*. La structure et la chimie de ces horizons peuvent varier grandement et influer différemment sur la biodisponibilité et la toxicité des contaminants pour la pédofaune. La couche supérieure (horizon A) est celle qui est le plus souvent échantillonnée aux fins d'essais biologiques. Elle renferme le plus de matière organique et c'est là que se déroule la plus grande partie de l'activité biologique des sols minéraux. Selon les objectifs de l'étude, on peut aussi prélever des échantillons de litière forestière (*horizon L*), de matières fulviques/humiques (*horizons F* et *H*) (p. ex., un terrain boisé) ou de matière organique superficielle (horizon O) des sols minéraux (p. ex., dans la toundra), le cas échéant. Pourraient également être échantillonnés l'horizon subsuperficiel B et (quoique moins fréquemment) l'horizon C. Dans la mesure du possible, les sols échantillonnés pour évaluer leurs effets sur des plantes de la région boréale décrites dans le présent document doivent être prélevés par horizon pédologique distinct. Il est recommandé d'échantillonner en fonction de la profondeur les sols dont les horizons pédologiques sont indistincts (p. ex., dont les horizons superficiels ont été mélangés ou perturbés par des activités anthropiques). Avant d'échantillonner un sol par horizon, la classification du profil pédologique du site doit d'abord avoir été établie, comme il est indiqué plus haut, de même que dans EC (2012). Lorsqu'on échantillonne un sol par horizon, il faudrait éviter toute dilution de la contamination, en particulier lorsque celle-ci ne s'étend verticalement que dans une partie d'un horizon. Dans un tel cas, l'horizon peut être échantillonné jusqu'à une certaine profondeur seulement ou faire l'objet de deux échantillonnages à deux profondeurs différentes (EC, 2012).

EC (2012) renferme d'autres indications détaillées sur le prélèvement d'échantillons aux fins d'essais toxicologiques. Avant le prélèvement, il faut d'abord délimiter le lieu d'échantillonnage. La surface de l'endroit où chaque échantillon de sol sera prélevé devrait ensuite être débarrassée des débris tels que brindilles, feuilles, pierres, chaume et litière (sauf si l'échantillonnage de l'*horizon L* est prévu dans le plan de l'étude). Si la surface est recouverte de graminées ou d'autres plantes herbacées, celles-ci

devraient être coupées au ras du sol et enlevées avant le prélèvement de l'échantillon. La végétation devrait être éliminée de manière à enlever le moins possible de particules du sol avec les racines. Dans le cas où la masse racinaire est dense (p. ex., en présence de graminées), il est conseillé d'arracher les racines et de les secouer vigoureusement afin de faire tomber les particules de sol qui y adhèrent. Les échantillons destinés à des essais toxicologiques et à des analyses chimiques devraient être prélevés à une ou des profondeurs représentatives de la ou des couches préoccupantes (p. ex., couche superficielle ou couches plus profondes de sol ou de sous-sol si on pense que d'anciens dépôts de contaminants peuvent poser des problèmes). Lorsque les sols présentent des *horizons* distincts (p. ex., sols forestiers non perturbés), on doit les échantillonner par horizon après avoir creusé une fosse (EC, 2012).

Le volume minimal ou masse de sol nécessaire à un essai est fonction des objectifs de l'étude, des conditions du site et du type d'essai à exécuter. Il varie selon le schéma expérimental (p. ex., essai à concentration unique ou à concentrations multiples), les caractéristiques physiques du sol (p. ex., masse volumique apparente, teneur en humidité, quantité de débris dans le sol), la nature des analyses chimiques à exécuter et la distribution des contaminants dans le sol (p. ex., distribution verticale). Avant d'entreprendre un programme d'échantillonnage, on devrait calculer le volume de sol requis par échantillon. Ce calcul devrait tenir compte des quantités exigées pour préparer les réplicats de laboratoire destinés aux essais de toxicité du sol, pour déterminer la granulométrie, la teneur en *COT*, la *TMO* et la *teneur en humidité* et pour procéder à des analyses chimiques particulières. On trouvera dans EC (2012) des recommandations quant au volume de sol à prélever pour des types précis d'essais biologiques. Pour obtenir le volume requis, il est souvent nécessaire de combiner des sous-échantillons prélevés à l'aide du dispositif d'échantillonnage choisi. On devrait suivre les conseils donnés dans EC (2012) pour le regroupement de sous-échantillons sur le terrain. Il convient d'appliquer la même méthode de prélèvement à tous les lieux d'échantillonnage. Les échantillons de chaque horizon doivent être transférés et entreposés dans des récipients distincts, sauf si le profil pédologique a été perturbé par suite de mesures d'assainissement du site.

On peut commencer à préparer les échantillons *in situ*, avant leur expédition au laboratoire d'essais. Cette préparation peut inclure l'enlèvement à la main des débris et/ou des organismes, le séchage à l'air, le tamisage et l'homogénéisation des échantillons. Toutes ces procédures sont décrites en détail dans EC (2012).

5.2 Étiquetage, transport, entreposage et analyse des échantillons

Les récipients de transport et d'entreposage des échantillons de sol ou d'une autre matière particulaire prélevés sur le terrain doivent être faits d'un matériau inerte non toxique. Le choix du récipient dépend du volume et de l'usage prévu de l'échantillon, de même que du type et de la nature de la contamination du sol. Les récipients doivent être propres et refermables hermétiquement, faciles à manipuler et suffisamment résistants pour supporter le poids de l'échantillon (EC, 2012). On emploie habituellement des sacs en plastique épais [p. ex., 4 mils (~100 µm)] pour le transport et l'entreposage des échantillons. Si on utilise des sacs en plastique, il est recommandé de placer chacun dans un second récipient opaque propre (p. ex., une glacière ou un seau en plastique muni d'un couvercle) afin d'éviter que le sac se déchire ou éclate sous l'effet du poids de l'échantillon et pour garder ce dernier dans l'obscurité pendant le transport (ASTM, 2009). Les contenants ou doublures en plastique ne devraient pas être utilisés s'il y a des risques que le plastique altère les caractéristiques du sol (p. ex., risques de lixiviation de composants de la matière plastique dans le sol). Les récipients devraient être étanches à l'air et résistants à la pression si le sol est contaminé par des composés volatils. L'annexe H de EC (2012) renferme une liste des récipients recommandés pour le transport et l'entreposage des échantillons de sol.

L'espace occupé par l'air dans le contenant utilisé pour le transport et l'entreposage des échantillons devrait être réduit au minimum (p. ex., en

comprimant le sac rempli ou partiellement rempli et en le fermant avec un ruban adhésif). Tout de suite après avoir rempli les récipients, on doit les fermer hermétiquement et les étiqueter ou les coder. Les étiquettes et les documents d'accompagnement préparés à ce moment-là doivent indiquer (que ce soit sous forme de code ou de description) au moins le type d'échantillon (p. ex., *ponctuel*, *en vrac*, *composite*), la date et l'heure du prélèvement, le site d'échantillonnage et son emplacement exact, l'état de l'échantillon, son numéro d'identification (y compris le numéro du réplicat, le cas échéant) et le volume de l'échantillon. Le nom et la signature de la ou des personnes ayant effectué le prélèvement devraient aussi être inclus.
On recommande également que les éléments ci-dessous soient consignés en détail par ces personnes :

- la nature, l'aspect et le volume de chaque échantillon;
- le dispositif et la méthode de prélèvement;
- les méthodes utilisées *in situ* pour regrouper ou subdiviser les échantillons de sol en vrac ou les échantillons ponctuels;
- toute forme de préparation (p. ex., tamisage, séchage) *in situ*;
- le nombre de réplicats par *lieu d'échantillonnage*;
- le calendrier des prélèvements;
- le type et le nombre de récipients utilisés pour le transport des échantillons;
- toute mesure (p. ex., température, pH, teneur en humidité du sol, masse volumique apparente) effectuée sur le lieu d'échantillonnage;
- la caractérisation des horizons pédologiques;
- tout test réalisé *in situ* (p. ex., sac de litière, exposition de vers de terre, bandes appâtées);
- les méthodes et conditions connexes au refroidissement et au transport des échantillons;
- les observations relatives aux conditions environnementales au moment de l'échantillonnage (p. ex., pluie);
- les observations relatives à la faune endogène et à la végétation du lieu d'échantillonnage et tout prélèvement de spécimens;
- la durée et les conditions d'entreposage des échantillons avant leur arrivée au laboratoire;
- des renseignements sur le mode de transport des échantillons.

Le tableau 10 de EC (2012) renferme d'autres recommandations quant aux observations et mesures effectuées *in situ*.

Pendant leur transport et leur entreposage, les échantillons de sol devraient être conservés au froid et il faudrait éviter de les exposer au gel ou à une chaleur excessive. On devrait utiliser au besoin des blocs réfrigérants, de la glace ordinaire ou tout autre moyen de réfrigération pour maintenir les échantillons au froid (p. ex., 7 ± 3 °C) pendant le transport. Il est recommandé de conserver les échantillons dans l'obscurité (dans des contenants opaques tels que des glacières ou des seaux en plastique munis d'un couvercle) durant le transport, surtout s'ils risquent de contenir des HAP ou d'autres substances chimiques susceptibles de réagir à la lumière ou d'être altérés s'ils sont exposés à la lumière solaire. La documentation appropriée doit accompagner tous les envois d'échantillons, notamment le formulaire de chaîne de conservation et tout document réglementaire connexe au transport de matières contaminées (v. EC, 2012 pour d'autres indications sur le transport des échantillons).

La date de réception des échantillons au laboratoire doit être consignée. La température et la teneur en humidité des échantillons à l'arrivée au laboratoire devraient également être mesurées et notées. On devrait aussi examiner chaque échantillon de *sol d'essai* (c.-à-d. chaque horizon pédologique) prélevé sur le terrain et consigner une description qualitative des éléments suivants : couleur, texture, indications sommaires sur la teneur en humidité, présence d'eau surnageante, d'invertébrés indigènes, de champignons ou de matière ligneuse, toute odeur forte (EC, 2012). Les échantillons qu'on prévoit entreposer pour un usage ultérieur doivent être

conservés dans des récipients étanches à l'air. Si le sol renferme des contaminants volatils ou particulièrement préoccupants, on devrait purger tout espace libre du récipient au moyen d'azote gazeux avant de fermer le récipient hermétiquement. Les échantillons ne devraient pas geler, même partiellement, pendant le transport ou l'entreposage (sauf si on les a prélevés à l'état congelé) et on ne doit pas les laisser se déshydrater. Cela dit, si un ou des échantillons sont saturés d'eau en excès à leur arrivée au laboratoire (p. ex., s'ils ont été prélevés pendant une forte pluie), on peut les transférer sur une toile en plastique pendant un court laps de temps (p. ex., ≥1 h) afin que l'eau en excès puisse s'écouler ou s'évaporer. Ils devraient ensuite être transférés de nouveau dans le ou les récipients de transport ou dans un ou des récipients étanches à l'air avant d'être entreposés.

Il est recommandé d'entreposer les échantillons dans l'obscurité à une température de 4 ± 2 °C. Ces conditions d'entreposage sont obligatoires lorsque le sol renferme des HAP ou d'autres contaminants photosensibles, ou si on sait que les échantillons contiennent des composés volatils instables préoccupants. On recommande également de procéder aux essais sur les échantillons de sol ou de matière particulaire semblable le plus tôt possible après le prélèvement. Les effets que peuvent avoir la durée et la température d'entreposage sur la toxicité et les propriétés du sol dépendent des contaminants présents et des caractéristiques du sol. Les essais toxicologiques devraient débuter dans les deux semaines suivant le prélèvement, de préférence dans la première, mais obligatoirement dans les six semaines, sauf s'il a été établi que les contaminants sont anciens et/ou météorisés et, donc, jugés stables. D'autres points à prendre en considération sont mentionnés dans EC (2012), et on devrait se conformer aux indications fournies dans ce document.

Au laboratoire, chaque échantillon de sol prélevé sur le terrain par horizon devrait être soigneusement mélangé (v. 5.3), après quoi on en prélève des sous-échantillons en vue de leur caractérisation physicochimique. Chaque horizon pédologique qui sera soumis à un essai (y compris tous les échantillons de *sol témoin négatif* et de *sol de référence* connexes) doit être caractérisé au moyen d'analyses effectuées sur des sous-échantillons et portant au moins sur les paramètres suivants :

- granulométrie (pourcentage de sable, de limon et d'argile);
- teneur en *COT*[69];
- *TMO*[69];
- *pH*;
- *conductivité*;
- *teneur en humidité*;
- *CRE*;
- azote total, nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-) et ammonium (NH_4^+);
- phosphore phytodisponible et/ou total;
- potassium phytodisponible et/ou total;
- ratio C/N;
- *CEC*.

On devrait aussi procéder aux analyses suivantes :

- anions et cations majeurs (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Al^{3+}, S^{2-}, Cl^-).

D'autres analyses pourraient être effectuées :

- masse volumique apparente;
- carbone inorganique total;
- solides volatils totaux;
- demande biochimique en oxygène;
- demande chimique en oxygène;
- *potentiel d'oxydoréduction*;
- sels solubles;
- rapport d'adsorption du sodium;
- contaminants préoccupants;
- caractéristiques de la contamination (p. ex., odeur, coloration, débris, présence de carburant ou de solvant).

[69] On peut calculer la teneur en *COT* d'après la TMO en multipliant cette dernière par une constante du sol (AESA, 2001). Toutefois, comme la relation entre le COT et la matière organique varie légèrement d'un sol à un autre, la teneur en COT devrait être déterminée également au moyen d'analyses de laboratoire.

Il est recommandé de procéder aux analyses préalables suivantes pour confirmer que le sol de référence n'est pas contaminé :

- insecticides organophosphorés;
- insecticides organochlorés;
- herbicides;
- métaux;
- hydrocarbures pétroliers (y compris les HAP);
- autres contaminants préoccupants propres au site ou à la région.

À moins d'indication contraire, on devrait procéder aux mêmes analyses chimiques, physiques et toxicologiques sur des sous-échantillons représentatifs de chaque réplicat d'horizon pédologique prélevé sur le terrain (y compris le *sol de référence*) préparé en vue d'une étude donnée de la qualité du sol, de même que sur un ou des sous-échantillons de *sol témoin négatif*.

5.3 Préparation des échantillons en vue des essais

Les échantillons de sol prélevés sur le terrain ne doivent pas être tamisés par voie humide, car on éliminerait ainsi les contaminants présents dans l'eau de porosité ou ceux dont la sorption sur la matière particulaire est faible. On enlève généralement les gros graviers (ou pierres), débris et macro-invertébrés indigènes ou la matière végétale à l'aide de pincettes ou à la main gantée. Si un échantillon contient beaucoup de débris grossiers indésirables (p. ex., matière végétale, copeaux de bois, verre, plastique, gros graviers) ou de gros macro-invertébrés, on peut les retirer en pressant le sol à travers un tamis à grosses mailles (p. ex., 4-10 mm; EC, 2012). On pourrait aussi procéder à un tamisage par voie sèche afin de s'assurer que la structure de l'échantillon (agrégation, matière organique ou distribution de l'argile) se prête aux essais. Il ne faudrait pas tamiser au laboratoire les échantillons qui l'ont déjà été sur le terrain ou qui présentent une texture grumeleuse optimale pour les essais (p. ex., grumeaux de 3-5 mm). Les échantillons constitués de sol subsuperficiel argileux humide sont très cohésifs et, souvent, on ne peut les tamiser ou les homogénéiser directement. Ces échantillons devraient d'abord être fractionnés à la main, puis séchés avant leur tamisage et leur homogénéisation, conformément aux indications données dans EC (2012). En règle générale, on devrait éviter de broyer les échantillons de sol, mais le broyage peut être nécessaire dans certains cas (p. ex., sols argileux) ou si on souhaite une plus grande homogénéité que celle obtenue par tamisage. Tout comme dans le cas des procédures d'échantillonnage et d'entreposage, il faudrait documenter adéquatement les procédures de préparation du sol et, obligatoirement, les consigner.

Il faudra peut-être reconstituer les composants de l'échantillon avant l'essai si, pendant la préparation du sol, l'eau que celui-ci contenait s'est décantée ou si des portions (p. ex., chaume, racines ou autre matière organique) qu'on a enlevées de l'échantillon doivent être mises à l'essai avec le sol (EC, 2012). Les *horizons pédologiques* sont prélevés comme composants distincts de l'échantillon de sol; avant l'essai, ils doivent être reconstitués dans chaque récipient d'essai selon les proportions qu'ils avaient dans le profil pédologique. Si on a confirmé la présence de contaminants préoccupants dans un seul horizon pédologique (p. ex., l'horizon organique supérieur) à partir d'analyses antérieures et/ou d'essais de toxicité, il faut alors, selon les objectifs de l'étude, déterminer si l'essai toxicologique avec des plantes portera sur cet horizon seulement ou sur les horizons du site reconstitués en laboratoire.

À moins d'indication contraire dictée par les objectifs particuliers de la recherche ou de l'étude, chaque échantillon ou horizon de *sol perturbé* prélevé sur le terrain devrait être homogénéisé au laboratoire avant de servir aux essais (USEPA, 1989)[70]. Tout liquide séparé de l'échantillon pendant son transport et/ou son entreposage doit, si possible, être réincorporé dans l'échantillon. Ce mélange peut cependant avoir une incidence sur la concentration et la biodisponibilité des contaminants présents dans le sol; c'est pourquoi l'homogénéisation pourrait ne pas être souhaitable dans tous les cas. Pour homogénéiser l'échantillon, on transfère une

[70] L'homogénéisation des échantillons permet notamment de réintégrer dans le sol l'eau de porosité remontée à la surface et de redistribuer les composants qui se sont tassés ou séparés en couches (selon la taille des particules) pendant le transport et l'entreposage.

quantité (calculée au préalable) de sol d'essai et/ou de référence dans un récipient rigide propre (p. ex., un gros bol en acier inoxydable ou en plastique) ou, pour de plus grandes quantités de sol, sur des toiles en plastique propres étalées sur le plancher. L'échantillon devrait être mélangé manuellement (à la main gantée ou à l'aide d'un ustensile non toxique, comme une cuillère en acier inoxydable) ou mécaniquement (p. ex., avec un malaxeur à main ménager réglé sur basse vitesse ou un fouet utilisé pour battre les œufs) jusqu'à obtention d'une texture et d'une couleur uniformes. Un certain nombre de méthodes d'homogénéisation d'échantillons de sol (p. ex., pliage, mélange, mise en cône) sont décrites en détail dans EC (2012). Pendant l'homogénéisation, il faudrait veiller à réduire au minimum l'impact de l'opération sur la structure du sol et à ne pas détruire complètement cette structure. Il est conseillé d'arrêter de mélanger l'échantillon dès qu'il semble avoir une couleur et une texture uniformes.

Les conditions de mélange, incluant la durée et la température, doivent être aussi semblables que possible pour chaque horizon pédologique inclus dans un essai. Si on doute de l'efficacité de la méthode utilisée, il est recommandé de prélever des sous-échantillons du sol mélangé et de les analyser séparément afin de déterminer leur homogénéité (granulométrie, substances chimiques étudiées et autres caractéristiques).

Comme il est indiqué en 3.7, un ou des échantillons de *sol d'essai* prélevés sur le terrain pourraient être soumis à des essais toxicologiques à concentration unique (sol d'essai non dilué) ou à concentrations multiples. Dans ce dernier cas, on prépare les concentrations en mélangeant des quantités mesurées du sol d'essai et du sol témoin négatif ou de référence. Dans un essai à concentrations multiples, la série suivante de concentrations de sol d'essai (mélangé avec un sol témoin négatif ou de référence) pourrait convenir : 100, 80, 65, 50, 30, 15, 7,5, 3, 1 et 0 %. On trouvera en 6.2 des conseils sur d'autres séries de concentrations susceptibles de convenir ou d'être plus appropriées, de même que des indications sur la préparation de mélanges qui pourraient aussi être utilisés dans des essais à concentrations multiples sur un ou des échantillons de sol prélevés sur le terrain. Le lecteur est invité à consulter la sous-section 4.1 pour des conseils additionnels au sujet du choix des concentrations d'essai. Dans tous les cas, l'essai doit comprendre un traitement constitué seulement d'un sol témoin négatif (v. 3.4).

Comme il est indiqué en 4.1, les horizons du sol d'essai et du sol de référence sont reconstitués par couches dans les récipients d'essai. L'épaisseur de chaque horizon disposé dans un récipient d'essai est propre à l'étude. Dans la mesure du possible, elle devrait être proportionnelle à la profondeur de l'horizon échantillonné sur le terrain ou être corrélée avec la profondeur des horizons s'ils sont très minces. Pour préparer un récipient d'essai comportant des horizons multiples, on traite chaque horizon individuellement (séchage, tamisage et homogénéisation), puis on le transfère dans le récipient. Chaque couche est superposée à l'autre soigneusement afin d'éviter tout mélange accidentel du sol des différents horizons. Le volume total de sol dans chaque récipient d'essai est toujours de ~500 mL (c.-à-d. un poids humide équivalant à un volume de ~500 mL), mais il est constitué de divers horizons du sol d'essai. On dispose dans le récipient d'essai un poids humide de sol de chaque horizon, proportionnel à la profondeur de l'horizon *in situ* ou conforme aux objectifs de l'étude (EC, 2012).

Aux fins d'un essai à concentrations multiples, on utilise des horizons distincts du sol d'essai ou de référence pour préparer les dilutions de sol d'essai. On mélange chaque horizon de sol d'essai avec l'horizon correspondant du sol témoin négatif ou de référence (v. section 4.1) à la concentration expérimentale voulue (p. ex., 25 %). Dans certains cas, il pourrait être impossible de prélever les mêmes horizons de sol témoin négatif ou de référence et de sol d'essai, par exemple, lorsque le site a fait l'objet de mesures d'assainissement préliminaires et que les horizons naturels ont été perturbés ou mélangés. Il faut alors soumettre l'échantillon aux essais en tant que sol mélangé et on ne tentera pas de reconstituer les différents horizons. On peut aussi préparer les concentrations d'essai en mélangeant le poids qui convient de sol d'essai et les horizons disponibles du sol témoin négatif ou de référence à la concentration voulue (p. ex., 25 %). Le mélange est ensuite disposé en couches dans les récipients d'essai,

l'épaisseur de chacune représentant les conditions de terrain ou correspondant aux objectifs de l'essai. Ces derniers doivent tenir compte du profil pédologique du sol de référence et de l'emplacement et/ou de la mobilité des contaminants du sol d'essai, le but étant d'apparier si possible les horizons équivalents du sol de référence et du sol contaminé.

La teneur en humidité d'un échantillon donné d'horizon de sol d'essai prélevé sur le terrain devrait être normalisée pendant la préparation de l'échantillon. Pour ce faire, on détermine la CRE du sol, puis on hydrate celui-ci jusqu'à obtention d'une teneur en humidité optimale correspondant à un pourcentage de la CRE. Le pourcentage optimal de la CRE de chaque échantillon d'horizon pédologique prélevé sur le terrain doit être déterminé avant la préparation de l'échantillon et la mise en route de l'essai. À cette fin, on doit établir la teneur en humidité de chaque échantillon homogénéisé (c.-à-d. chaque échantillon d'horizon pédologique, y compris le sol témoin négatif) (v. 4.1 et 4.6). On doit ensuite déterminer la CRE de chaque échantillon en appliquant une méthode normalisée reconnue (des explications sont données dans les trois paragraphes qui suivent). Enfin, on hydrate un sous-échantillon de chacun jusqu'à obtention d'une consistance grumeleuse homogène, avec des grumeaux de ~3-5 mm de diamètre[71]. La teneur en humidité, la CRE et le pourcentage optimal de la CRE de chaque horizon pédologique doivent être déterminés séparément. On peut s'attendre à ce que les horizons pédologiques présentant une TMO plus élevée aient une CRE également plus élevée que les horizons minéraux, de sorte qu'il faudra une plus grande quantité d'eau pour obtenir une texture humide et grumeleuse.

À partir de la teneur en humidité initiale et de la CRE de chaque horizon prélevé séparément, de même que du volume d'eau ajouté pour obtenir la consistance voulue du sol, on peut calculer la teneur en humidité optimale, exprimée sous forme de pourcentage de la CRE de chaque horizon. Une fois ce pourcentage cible (ou optimal) déterminé, on peut normaliser la teneur en humidité de chaque échantillon d'horizon pédologique (y compris le sol témoin négatif) selon la teneur en humidité choisie (propre à l'échantillon). On devrait ajouter de l'*eau d'essai* (désionisée ou distillée) à chaque échantillon dont la teneur en humidité est inférieure au pourcentage optimal préalablement établi de sa CRE, jusqu'à obtention de cette teneur (Aquaterra Environmental, 1998)[72, 73]. Si l'échantillon est trop humide, il devrait être étalé en une couche fine sur une toile en plastique propre (p. ex., un sac à déchets neuf en plastique) ou sur un plateau propre fait d'un matériau non réactif (p. ex., acier inoxydable ou plastique) et laissé à sécher par évaporation à la température ambiante (~20 °C). Il faudra peut-être réhydrater l'échantillon jusqu'à obtention du pourcentage optimal (prédéterminé) de sa CRE. Une fois la teneur en humidité de l'échantillon ajustée au pourcentage désiré de sa CRE, la teneur en humidité de l'échantillon hydraté doit être déterminée et cette valeur ainsi que le pourcentage de la CRE doivent être consignés.

La CRE (et son pourcentage optimal pour les essais biologiques) d'un horizon pédologique donné est généralement caractéristique du type d'horizon. En dernière analyse, elle est le résultat de l'interaction de nombreuses variables associées à la structure du sol (p. ex., micro/macro-agrégation, porosité, masse volumique apparente, *texture*, *TMO*). Il existe un certain nombre de méthodes pour déterminer la CRE, mais elles exigent pour la plupart que les mesures soient effectuées sur un échantillon

[71] Pendant la mise au point de la présente méthode d'essai biologique, on a établi la teneur optimale en humidité de chacun des types de sol utilisés (v. 3.4 et annexe F) en se fondant sur un pourcentage de la CRE de chaque échantillon. Ces teneurs ont été considérées comme optimales puisque, à ces degrés de saturation, le sol se mélangeait bien et présentait une structure acceptable (c.-à-d. une macro-agrégation des particules de sol).

[72] Certains expérimentateurs utilisent parfois une autre méthode qui consiste à normaliser (et ajuster) la teneur en humidité de chaque échantillon de sol prélevé sur le terrain jusqu'à obtention d'une concentration fixe, comme 35-45 % de son poids sec (EC, 2000; ASTM, 2004). Cependant, cette méthode n'est pas recommandée du fait que certains échantillons de sol prélevés sur le terrain peuvent sembler très humides et être surmontés d'eau surnageante après une hydratation à seulement 35-45 % de leur poids sec, tandis que d'autres *sols de site* pourront sembler beaucoup plus secs après un même degré d'hydratation (EC, 2000; ASTM, 2004).

[73] L'utilisation d'eau purifiée (désionisée ou traitée par osmose inverse) pour hydrater un sol permet d'éviter l'introduction de cations, d'anions ou de métaux traces dans le sol (EC, 2012).

de sol intact (p. ex., une *carotte* de sol) prélevé de façon à préserver ses caractéristiques (agrégations structurales, porosité, masse volumique apparente, *texture* et *TMO*). L'USEPA (1989) a mis au point une méthode qui convient aux essais toxicologiques sur des matières non consolidées (comme des échantillons de sol prélevés sur le terrain, qui ont été séchés, tamisés et homogénéisés, ou des échantillons de sol préparés en laboratoire à partir de divers constituants)[74]. Cette méthode est résumée ci-après.

Pour commencer, on dépose ~130 g (poids humide)[75] de l'échantillon sur un plateau en aluminium ou dans une boîte de Petri (15 cm × 1 cm) qu'on fait sécher à 105 °C jusqu'à obtention d'un poids constant (il faut compter habituellement ≥24 h). On refroidit le sol dans un dessicateur pendant ≥20 min, après quoi on en transfère ~100 g dans un bécher en verre de 250 mL et on ajoute 100 mL d'eau distillée ou désionisée. Il faut ensuite brasser soigneusement la suspension avec une tige en verre. On plie un papier filtre (papier crêpé Fisherbrand^{MC}, de porosité grossière P8 et de 185 mm de diamètre, n° 09-790-12G au catalogue) qu'on place dans un entonnoir en verre (diamètre intérieur supérieur de 100 mm et longueur de tige de 95 mm) de telle sorte que le papier filtre plié coïncide avec le bord supérieur de l'entonnoir. À l'aide d'une pipette, on mouille le papier filtre sur toute sa surface en ajoutant lentement jusqu'à 9 mL d'eau distillée ou désionisée, puis on pèse l'entonnoir et le papier filtre mouillé.

Pour obtenir le poids initial de l'ensemble entonnoir, papier filtre mouillé et sol sec (« I » dans l'équation 1 ci-dessous), on ajoute le poids du sol sec (100 g) à celui de l'entonnoir et du papier filtre mouillé.

On place ensuite l'entonnoir dans un flacon Erlenmeyer de 500 mL et on verse lentement la suspension de sol sur le papier filtre mouillé. Tout sol restant sur les parois du bécher ou sur la tige en verre est rincé dans l'entonnoir avec la plus petite quantité d'eau nécessaire pour que toute la matière solide soit entraînée sur le filtre. Il faut ensuite bien couvrir l'entonnoir avec une feuille d'aluminium et laisser l'eau s'écouler pendant 3 h à la température ambiante. On pèse ensuite l'entonnoir contenant le papier filtre mouillé et le sol humide. Le poids obtenu représente le poids final de l'ensemble entonnoir, papier filtre mouillé et sol (humide) (« F » dans l'équation 1).

La *CRE* du sous-échantillon de sol que contient l'entonnoir, exprimée sous forme de pourcentage du poids sec du sol, est calculée comme suit :

$$CRE = \frac{F - I}{S} \times 100 \qquad [1]$$

où :

CRE = capacité de rétention d'eau
F = poids final de l'ensemble entonnoir, papier filtre mouillé et sol humide
I = poids initial de l'ensemble entonnoir, papier filtre mouillé et sol sec
S = 100 g (poids sec du sol)

La CRE de chaque échantillon de *sol d'essai* devrait faire l'objet d'une triple détermination, à l'aide de trois sous-échantillons.

Le pourcentage d'eau ajouté à un échantillon d'horizon pédologique pour obtenir l'hydratation désirée (soit le pourcentage optimal de la CRE) peut être calculé comme suit[76] :

[74] Des participants à un atelier sur les essais de toxicité des sols organisé par Environnement Canada à Vancouver (BC), en février 2003, considéraient que la méthode consistant à déterminer la CRE et un pourcentage de celle-ci était la plus appropriée pour exprimer la teneur en humidité du sol (EC, 2004b). Un programme expérimental a donc été mis sur pied pour comparer deux méthodes différentes d'estimation de la CRE du sol [soit la méthode décrite à l'annexe C de ISO (1999) ou la méthode présentée dans USEPA (1989)] et pour évaluer une méthode légèrement différente dans laquelle la teneur en humidité du sol est exprimée sous forme de pourcentage de l'espace interstitiel du sol rempli d'eau. Selon les résultats de cette étude, chaque méthode présente des avantages et des inconvénients. Cela dit, c'est la méthode de l'USEPA (1989) qui a été recommandée pour mesurer la CRE dans les méthodes d'essai de toxicité de sols d'Environnement Canada comportant l'ajustement (le cas échéant) de la teneur en humidité des échantillons de sol (Becker-van Slooten et coll., 2004).

[75] Un plus gros volume (p. ex., dans le cas d'un sol très organique) pourrait être nécessaire pour obtenir 100 g de sol (poids sec).

[76] L'exemple suivant illustre les calculs relatifs à l'hydratation d'échantillons d'horizons pédologiques contaminés prélevés sur le terrain et d'un horizon de référence, associés à la préparation d'une concentration d'essai de 25 % en vue d'un essai définitif avec des plantes, comportant trois répétitions par traitement. Dans cet exemple, le volume total requis correspond à celui d'un seul horizon pédologique occupant un volume de 250 mL dans un récipient d'essai de 500 mL (un

ou deux autres horizons pédologiques constituent le reste du volume, calculé séparément pour chacun).

Hypothèses :

Sol n° 1 : sol de référence (r)

H_r = 4,1857 g
S_r = 4,0402 g
CRE_r = 51,80 %
P_{CREr} = 55,00 %
TH_r = 3,60 %
P_{Hr} = 24,89 %
P_{Sr} = 502,50 g (poids sec)
V_{Hr} = 125,07 mL
P_{Hr} = 520,60 g (poids humide)

Sol n° 2 : sol contaminé (c)

H_c = 6,0779 g
S_c = 5,7978 g
CRE_c = 50,60 %
P_{CREc} = 42,50 %
TH_c = 4,83 %
P_{Hc} = 16,68 %
P_{Sc} = 167,50 g (poids sec)
V_{Hc} = 27,94 mL
P_{Hc} = 175,59 g (poids humide)

$TH = [(H - S) / S] \times 100$ [1]
$P_E = [CRE \times (P_{CRE} / 100)] - TH$ [2]
$V_E = (P_E \times P) / 100$ [3]
$P_H = (P_S \times H) / S$

H = poids humide du substrat (g)
S = poids sec du substrat (g)
CRE = capacité de rétention d'eau (% du poids sec)
P_{CRE} = pourcentage souhaité de la CRE
TH = teneur en humidité initiale du substrat
P_E = pourcentage d'eau à ajouter au sol
P_s = poids total de sol exigé pour l'essai (exprimé sous forme de poids sec)
V_E = volume d'eau à ajouter au sol (mL)
P_H = poids total de sol exigé pour l'essai (exprimé sous forme de poids humide, d'après la TH initiale)

Calculs pour l'obtention d'une concentration de 25 % de sol contaminé dans un sol de référence :

Aux fins du présent exemple, on suppose qu'un poids total de 670,00 g (poids sec) de sol d'un horizon pédologique suffit pour satisfaire aux exigences relatives à chaque traitement [soit 215,00 g (poids sec) par répétition × 3 répétitions + 25,00 g (poids sec) de surplus pour la détermination du pH, de la conductivité, etc.]; on utiliserait ce même calcul pour ajouter un ou des horizons pédologiques afin que le volume total dans chaque récipient d'essai soit l'équivalent d'une aliquote de sol de 500 mL (v. 4.1).

Pour obtenir une concentration de 25 % de sol contaminé dans le sol de référence, il faut que 25 % du poids total de sol (poids sec), consiste en sol contaminé :

670,00 g (poids sec) × (25/100)

= 167,50 g (poids sec) de sol contaminé

Le reste du sol d'essai (75 %) requis pour préparer ce traitement consistera en sol de référence :

670,00 g (poids sec) × (75/100) [ou 670,00 g (poids sec) – 167,50 g (poids sec)]

= 502,50 g (poids sec) de sol de référence

Le poids total final de sol requis, fondé sur le poids humide, est donc de 645,67 g [520,60 g (poids humide) à la teneur en humidité initiale du sol (P_{Hr}) + 125,07 mL d'eau] pour le sol de référence, et de 203,53 g [175,59 g (poids humide) à la teneur en humidité initiale du sol (P_{Hc}) + 27,94 mL d'eau] pour le sol contaminé.

La teneur en humidité finale pour chaque sol serait de 28,49 % {[(645,67 – 502,50)/502,50] × 100} pour le sol de référence, et de 21,51 % {[(203,53 – 167,50)/167,50] × 100} pour le sol contaminé.

La teneur en humidité finale du sol de référence (28,49 %) représente 55 % de la CRE de ce sol (28,49 ÷ 51,80 = 0,55). La teneur en humidité finale du sol contaminé (21,51 %) représente 43 % de la CRE de ce sol (21,51 ÷ 50,60 = 0,43).

$P_E = [CRE \times (P_{CRE} / 100)] - TH_i$ [2]

où :

P_E = pourcentage d'eau à ajouter à l'horizon pédologique
CRE = capacité de rétention d'eau (%)
TH_i = teneur en humidité initiale de l'horizon pédologique

Le volume d'eau (V_E) qu'il faudrait ajouter à un échantillon d'horizon pédologique prélevé sur le terrain pour obtenir l'hydratation souhaitée (soit le pourcentage optimal de la CRE de l'échantillon) peut être calculé comme suit (v. la note de bas de page n° 76) :

$V_E = (P_E \times P) / 100$ [3]

où :

V_E = volume d'eau à ajouter à l'horizon pédologique (mL)
P_E = pourcentage d'eau à ajouter à l'horizon pédologique
P = poids total de sol de l'horizon pédologique requis pour l'essai (poids sec)[77].

[77] Dans les essais sur des échantillons d'horizons pédologiques prélevés sur le terrain, la quantité de sol de chaque horizon à ajouter dans un récipient d'essai est proportionnelle à la profondeur *in situ* de chaque horizon. Cette quantité est basée sur le poids humide qui donnera, proportionnellement à chaque horizon, un volume total de ~500 mL (v. 4.1). Cependant, « P » (soit le poids total de sol requis pour l'essai) est exprimé sous forme de poids sec dans la formule utilisée pour calculer le volume d'eau à ajouter à un horizon pour obtenir l'hydratation souhaitée (v. équation 3). Pour calculer la quantité de sol requise par récipient d'essai (poids sec), on dépose un sous-échantillon de sol « humide » dans un récipient d'essai (p. ex., un récipient en polypropylène de 1 L) afin de déterminer le volume exact de sol requis en fonction du poids humide. Par exemple, supposons que, pour un échantillon donné, ce volume équivaut à 300 g (poids humide) et que les poids humide et sec d'un sous-échantillon de l'horizon, déterminés auparavant pour le calcul de la CRE de l'échantillon, sont de 4,1857 g et 4,0402 g, respectivement. Le poids sec qui équivaut à un volume de 300 mL de cet échantillon (d'un poids humide de 300 g) peut être calculé comme suit :

(300 g × 4,0402 g) ÷ 4,1857 g = 289 g

Cette valeur peut être arrondie à 300 g (poids sec), ce qui donnera un petit surplus de sol, en cas de besoin. Par conséquent, dans cet exemple, le poids de l'échantillon d'horizon pédologique requis pour chaque répétition (poids sec) est de 300 g. Pour calculer le poids total (« P »), il suffit de multiplier le poids sec requis pour chaque répétition (dans le

On trouvera dans EC (2012) la description de divers modes opératoires applicables aux échantillons de sol qui ne peuvent pas être soumis aux essais dans l'état dans lequel ils ont été prélevés et qu'il faut conditionner pour satisfaire aux objectifs de l'étude ou aux OQD. Ces modes opératoires incluent les suivants : lavage, vieillissement/météorisation, ajustement du pH, amendement, ajustement de la fertilité du sol, réduction du nombre de micro-organismes indigènes. En règle générale, les échantillons de sol prélevés sur le terrain ne doivent faire l'objet d'aucun ajustement ou conditionnement, sauf si les essais toxicologiques sont réalisés à des fins de recherche et visent à déterminer l'effet d'un conditionnement particulier sur la toxicité de l'échantillon. Si on souhaite examiner un tel effet (p. ex., ajustement du pH), il convient d'effectuer deux essais en parallèle, dont un comportant une ou des séries de traitements avec ajustement et un autre, sans ajustement. Tout conditionnement doit être consigné en détail.

Immédiatement après l'hydratation (ou la déshydratation) et le mélange des échantillons, on doit prélever les sous-échantillons dont on a besoin pour l'essai toxicologique et pour les analyses physicochimiques. On place les premiers dans des récipients d'essai étiquetés (v. 4.1) et les seconds, dans des récipients d'entreposage étiquetés également. Toute portion restante d'échantillon homogénéisé dont on pourrait avoir besoin pour des essais toxicologiques supplémentaires avec des plantes ou d'autres organismes expérimentaux (p. ex., selon EC, 2004a, 2005a, 2007a) devrait être transférée par la même occasion dans des récipients étiquetés. Tous les sous-échantillons entreposés devraient être conservés dans des récipients fermés hermétiquement et comportant le moins d'air possible; ils doivent être entreposés dans l'obscurité à une température de 4 ± 2 °C (v. 5.2) jusqu'à ce qu'ils soient utilisés ou analysés. Juste avant les essais ou les analyses, chaque sous-échantillon doit être bien mélangé de nouveau afin d'en assurer l'homogénéité.

cas présent, 300 g) par le nombre de répétitions qui seront utilisées dans l'essai (dans cet exemple, 3 répétitions).

5.4 Éléments particuliers à prendre en considération dans la collecte, la manipulation et la préparation de sol de diverses écozones du Canada

Des indications précises sur l'échantillonnage, la manipulation, le transport, l'entreposage et la préparation de sol de diverses écozones du Canada sont fournies dans EC (2012).

Environnement Canada a publié diverses méthodes (EC, 2004a, 2005a, 2007a) permettant d'évaluer des sols dont le pH est neutre ou presque neutre et dont la TMO est de ~3-12 %. Ces deux propriétés sont généralement caractéristiques des horizons Ah des sols agricoles du Canada, de même que des sols des écorégions de forêts de feuillus mixtes du sud-est du pays (p. ex., écozone des prairies et écozone des plaines à forêts mixtes). De nombreux autres types de sols répandus au Canada ont des propriétés qui ne sont pas considérées comme typiques dans les méthodes normalisées qu'Environnement Canada a déjà publiées, et ces sols exigent des procédures spéciales d'échantillonnage, de manipulation, de transport, d'entreposage et de préparation. Il s'agit notamment des sols de la forêt boréale, des sols minces/pierreux, des sols organiques, des sols cryosoliques et des sols des milieux humides, qui se prêtent tous aux essais avec des plantes de la région boréale décrits dans la présente méthode. Étant donné que ces types de sols couvrent la plus grande partie de la masse terrestre du Canada et que certaines activités anthropiques (p. ex., exploitation minière, foresterie, production pétrolière et gazière) se déroulant dans ces écozones ont donné lieu ou peuvent donner lieu à la contamination des terres, des conseils précis sont fournis dans EC (2012) sur leur prélèvement, leur manipulation, leur transport, leur entreposage et leur préparation. On trouve aussi dans ce document des indications sur la variation des sols de chacun des écosystèmes décrits, de même que les éléments à prendre en considération quant au choix des espèces expérimentales convenant aux essais sur ces sols.

5.5 Observations et mesures

Au moment du démarrage de l'essai, il faudrait procéder à une description qualitative de chaque horizon pédologique échantillonné sur le terrain. Cette description pourrait inclure des observations

relatives à la couleur, à la texture et à l'homogénéité de l'échantillon, de même qu'à la présence de plantes ou de macro-invertébrés. Toute modification de l'aspect du sol observée au cours de l'essai ou à la fin doit être consignée.

On trouvera en 4.6 les marches à suivre et les exigences connexes aux observations et mesures à effectuer au début, au cours ou à la fin de l'essai. Ces observations et mesures s'appliquent aux essais de toxicité décrits ici sur un ou des échantillons de sol de site et sont donc obligatoires.

Selon le schéma expérimental et les objectifs de l'essai, on pourrait préparer des récipients d'essai supplémentaires au début de l'essai (v. 4.1) dans le but de surveiller la composition chimique du sol. Ces récipients pourraient faire l'objet d'un échantillonnage destructif au cours et à la fin de l'essai. On pourrait ajouter ou non des organismes expérimentaux dans ces récipients supplémentaires, selon les objectifs de l'étude. Pour mesurer les concentrations de la ou des substances chimiques dans les horizons de sol de ces récipients, on peut en prélever des aliquotes aux fins des diverses analyses (v. 5.2).

5.6 Paramètres et calculs

L'interprétation des résultats des essais sur un ou des échantillons de *sol d'essai* prélevés sur le terrain se résume toujours à une comparaison des effets biologiques observés dans le sol d'essai (sol de site) et dans le *sol de référence*. Dans la mesure du possible, on devrait se servir d'un échantillon de sol de référence à des fins de comparaison, car cela permet d'évaluer la toxicité d'un lieu donné (EC, 1997a, 1997b, 2004a, 2005a, 2007a). Cela dit, il arrive parfois que le sol de référence ne convienne pas à cet usage en raison de sa toxicité ou de ses caractéristiques physicochimiques atypiques. Dans de tels cas, on devrait plutôt comparer le *sol d'essai* et un *sol témoin négatif*. Les résultats obtenus avec le *sol témoin négatif* aideront à distinguer les effets attribuables aux contaminants de ceux causés par des propriétés physicochimiques du sol telles que la granulométrie, la teneur en *COT* et la TMO[78]. Qu'on utilise un *sol de référence* ou un *sol témoin négatif* pour les comparaisons statistiques, on doit toujours se servir des résultats obtenus avec le *sol témoin négatif* pour juger de la validité et de l'acceptabilité de l'essai (v. 4.4).

L'analyse des résultats diffère selon l'objet de l'essai et le plan d'étude. La présente sous-section traite des méthodes d'analyse à employer, de la plus simple à la plus complexe. En règle générale, les méthodes statistiques normalisées suffisent pour analyser les résultats. Les expérimentateurs trouveront dans EC (2005b) des conseils au sujet des paramètres statistiques appropriés et de leur calcul. Comme toujours, on devrait demander l'avis d'un statisticien versé dans le domaine de la *toxicologie* pour établir des plans d'étude et analyser les résultats des essais.

Pour interpréter statistiquement les résultats des essais de toxicité d'un sol, on emploie couramment l'ANOVA, qui fait intervenir des comparaisons multiples des valeurs des paramètres obtenues dans des essais à concentration unique sur des réplicats (du sol d'essai) prélevés en plus d'un *lieu d'échantillonnage*. Cette approche fondée sur des tests d'hypothèse comporte d'importantes lacunes. En particulier, toute augmentation de la variation dans l'essai tend à amoindrir la capacité de distinguer les effets *toxiques* (en d'autres termes, la toxicité est sous-évaluée). De la même façon, le fait d'employer un petit nombre plutôt qu'un grand nombre de répétitions peut aussi diminuer le pouvoir discriminatoire de l'essai et mener à la même conclusion erronée au sujet de la toxicité du sol, toutes choses étant égales par ailleurs (v. 5.6.2). Cela dit, l'approche fondée sur les tests d'hypothèse s'impose lorsqu'on compare les données de toxicité d'échantillons multiples de sol prélevés sur le terrain (réplicats provenant de plus d'un lieu d'échantillonnage) comportant une seule concentration (échantillons habituellement non dilués, ou purs à 100 %). Il existe cependant d'autres solutions pour comparer les estimations ponctuelles

[78] Il faut noter que cette façon de procéder donnera un plan d'expérience dans lequel les *répétitions* (sol témoin) sont mélangées avec les *réplicats* (provenant des lieux d'échantillonnage) et que l'expérimentateur devra peut-être traiter les répétitions comme des réplicats. Même si cette façon de faire ne convient pas d'un point de vue statistique, on devra considérer qu'elle est acceptable, étant donné l'absence de solutions de rechange raisonnables. Si on juge que les inférences tirées des analyses auront une incidence marquée (p. ex., des critères d'assainissement), on devrait consulter un statisticien.

de la toxicité si on met à l'essai diverses concentrations de chaque échantillon prélevé sur le terrain et si on détermine des CI_p multiples (v. 6.4). Il est recommandé de consulter la section 9 de EC (2005b) pour obtenir des conseils au sujet de la comparaison de CI_p multiples.

Les analyses paramétriques, au moyen de l'ANOVA, des données comparatives obtenues dans des essais à concentration unique sur des échantillons multiples prélevés sur le terrain supposent que les données suivent une distribution normale, que les traitements sont indépendants et que la variance est homogène parmi les différents traitements. Il faudrait donc commencer par vérifier ces hypothèses en appliquant le *test de Shapiro-Wilk* pour la *normalité* de la distribution des données et le *test de Bartlett* pour l'homogénéité de la variance (Eisenhart et coll., 1947; Sokal et Rohlf, 1969). Si les données satisfont à ces hypothèses, on peut procéder aux analyses. Sinon, les données pourraient être transformées (p. ex., racines carrés, logarithmes) (Mearns et coll., 1986). Il est possible que les données transformées satisfassent alors aux hypothèses de normalité et d'homogénéité; en fait, c'est ce qu'on attend de la transformation des données. Les hypothèses devraient être soumises à un nouveau test après toute transformation de données. Les tests paramétriques sont raisonnablement robustes dans le cas d'écarts modérés par rapport à la normalité et à l'égalité de la variance; par conséquent, les analyses paramétriques (p. ex., ANOVA et comparaisons multiples) devraient être entreprises même s'il existe encore une non-conformité modérée après la transformation des données. L'exclusion d'un ensemble de données en raison d'irrégularités mineures pourrait priver l'expérimentateur d'une analyse sensible et satisfaisante et empêcher la détection des effets réels de la toxicité[79]. Parallèlement à ces analyses paramétriques, on devrait procéder à des évaluations statistiques non paramétriques, en utilisant la plus sensible des deux analyses (celle pour laquelle la valeur du paramètre est la plus basse) pour obtenir les estimations finales de la toxicité. On trouvera à la section 3 de EC (2005b) des conseils au sujet de la comparaison, à l'aide de tests paramétriques et non paramétriques, des résultats d'essais à concentration unique sur des réplicats provenant de lieux d'échantillonnage multiples.

On devrait se conformer aux lignes directrices de la section 6 du présent document (y compris celles de la sous-section 6.2 en ce qui a trait aux essais préliminaires et celles de la sous-section 4.8 pour le calcul des paramètres de l'essai) si on entreprend un essai à concentrations multiples sur un ou des échantillons de sol prélevés sur le terrain et dilués avec un *sol témoin négatif* ou un sol de référence *non contaminé*. Il est recommandé de consulter la section 9 de EC (2005b) lorsqu'on veut comparer de telles estimations ponctuelles de la toxicité de multiples échantillons de sol prélevés sur le terrain.

5.6.1 Variantes du plan d'étude et des analyses

Une étude très préliminaire peut n'employer qu'un seul échantillon de *sol d'essai* (*sol de site* contaminé ou susceptible d'être contaminé) et un échantillon de *sol de référence*, sans répétition. Il suffit souvent d'examiner les résultats ainsi obtenus pour concevoir des études plus approfondies.

Si on doit comparer les résultats obtenus pour le seul *lieu d'échantillonnage* à l'étude avec ceux obtenus pour un lieu d'échantillonnage de référence, un *test t*[80] convient habituellement à l'analyse statistique (v. 3.2 dans EC, 2005b). Lorsque plus d'un lieu d'échantillonnage (traitement) est à l'étude et que l'expérimentateur souhaite comparer de nombreux lieux d'échantillonnage entre eux ou avec le lieu d'échantillonnage de référence, il peut avoir recours à des ANOVA et à des tests de comparaisons multiples (et équivalents non

[79] Les tests de normalité et d'homogénéité deviennent moins significatifs quand on dispose d'un nombre réduit d'échantillons prélevés à chaque *lieu d'échantillonnage*, comme c'est généralement le cas pour les études d'*écotoxicologie*. La construction d'un graphique et l'examen de la nature générale de la distribution de la toxicité et de ses écarts apparents peuvent être plus révélateurs et sont d'ailleurs recommandés (EC, 2005b). L'égalité du nombre d'échantillons et l'ampleur de la variation influent grandement sur l'issue des analyses paramétriques, mais les toxicologues accordent bien peu d'importance à ce fait. La robustesse de l'ANOVA est mise en évidence par la capacité de cette méthode de produire des probabilités réalistes si la distribution des données est raisonnablement symétrique et si les variances entre les traitements s'écartent de moins du triple les unes des autres (Newman, 1995).

[80] Ce test suppose une égalité des variances entre les groupes, mais on peut le modifier pour tenir compte d'une inégalité des variances (EC, 2005b).

paramétriques) (v. 3.3 dans EC, 2005b). Le choix du test se fonde sur les éléments suivants :

1) le type de comparaison à établir (p. ex., une série complète de comparaisons par paires entre tous les lieux d'échantillonnage ou une comparaison de la réponse obtenue pour chaque lieu et pour le lieu de référence seulement);
2) l'existence prévue d'un gradient chimique et/ou d'un gradient dans la réponse biologique[81];
3) la satisfaction des hypothèses de *normalité* et d'*homoscédasticité*.

En théorie, on pourrait effectuer une évaluation préliminaire à partir d'échantillons provenant d'un grand nombre de lieux d'échantillonnage, mais sans réplicats prélevés sur le terrain ou sans réplicats de laboratoire (intra-échantillon), dans le but de repérer un nombre réduit de *lieux d'échantillonnage* méritant une étude plus détaillée et plus approfondie. Dans ce cas, les possibilités d'analyse statistique seraient limitées. Les données d'essai sans répétition pourraient être comparées aux données de référence à l'aide des méthodes de détection des valeurs aberrantes (EC, 2005b). Un échantillon serait jugé *toxique* si on rejetait les résultats parce qu'ils sont aberrants par rapport à ceux obtenus avec le *sol de référence* et/ou le *sol témoin négatif*.

Une étude de sol plus traditionnelle supposerait le prélèvement de réplicats en plusieurs endroits et de manière identique, puis la comparaison des résultats pour ces réplicats et pour ceux d'un seul *sol de référence* et/ou *sol témoin négatif*. Il existe plusieurs pistes d'analyse, selon le type et la qualité des données, mais on commencera très souvent par une ANOVA, suivie de l'un des tests à comparaisons multiples. Dans l'ANOVA, le *sol de référence* serait également traité comme un échantillon provenant d'un « lieu ».

Dans ces études portant sur des lieux multiples, le type de répétition influerait sur l'interprétation des résultats. Si des réplicats étaient prélevés à chaque lieu d'échantillonnage et qu'on ne préparait pas de réplicats de laboratoire, une ANOVA unidimensionnelle permettrait d'évaluer l'écart global dans les résultats de l'essai en regard du lieu d'échantillonnage, en sus de la variation combinée du prélèvement des échantillons et de la réalisation de l'essai. Il serait inhabituel — mais l'analyse serait beaucoup plus probante — de prélever des réplicats dans tous les lieux d'échantillonnage et de préparer également pour chacun des réplicats de laboratoire. Si on procédait ainsi, les résultats obtenus pour les réplicats de laboratoire pourraient alors s'emboîter pour l'exécution d'une ANOVA unidimensionnelle et servir de base au calcul comparatif de la variation entre les échantillons. L'ANOVA pourrait être utilisée pour déterminer s'il existe un écart global : a) entre les résultats de l'essai en fonction du lieu d'échantillonnage et b) entre les réplicats prélevés en divers lieux d'échantillonnage. Après une ANOVA, on procéderait à un ou des tests à comparaisons multiples, comme il est expliqué ci-après.

Si l'essai portait seulement sur des réplicats de laboratoire (sans réplicats prélevés sur le terrain), il serait impossible de tirer des conclusions au sujet des écarts dus au lieu d'échantillonnage (v. 5.1). Les réplicats de laboratoire n'indiqueraient que les différences éventuelles, entre échantillons, qui seraient supérieures à la variation de base dans les procédures intralaboratoires de préparation et d'exécution de l'essai. La variation associée au lieu d'échantillonnage ne serait pas vraiment évaluée dans l'analyse statistique, mais elle contribuerait aux différences éventuelles dans les résultats de l'essai connexes au lieu d'échantillonnage.

Si on souhaite comparer les résultats obtenus avec les réplicats prélevés à chaque lieu d'échantillonnage à ceux obtenus avec le sol de référence afin de vérifier si la toxicité des sols provenant des deux sources (lieux d'échantillonnage) diffère, on devrait se servir du *test de Dunnett*. Ce test s'appuie sur les hypothèses de normalité et de variance homogène et fait intervenir une valeur expérimentale de α (probabilité de déclarer un écart appréciable là où il n'en existe pas). Si le nombre de réplicats est inégal, il est conseillé d'utiliser la *modification de Dunn-Sidak du test t* ou encore l'*ajustement de Bonferroni du test t* (p. 189 dans Newman, 1995; annexe D dans USEPA, 1995; sous-section 7.5.1 dans EC, 2005b).

[81] Dans un tel cas, on détermine le gradient pendant la mise au point du schéma expérimental (donc, a priori) et non après la collecte des données. On trouvera à la sous-section 3.3 de EC (2005b) des indications relatives aux gradients d'effet.

Dans une étude comportant des lieux d'échantillonnage multiples, l'expérimentateur pourrait vouloir savoir quels échantillons provenant de divers lieux d'échantillonnage ont produit des résultats statistiquement différents, soit entre eux, soit par rapport à l'échantillon ou aux échantillons de sol témoin négatif et/ou de référence. Cela peut être le cas lorsque les échantillons sont prélevés à des distances de plus en plus grandes d'une source ponctuelle de contamination et que l'expérimentateur souhaite savoir quels lieux d'échantillonnage présentent une toxicité passablement plus élevée (d'après les échantillons) et nécessitent donc plus particulièrement une décontamination. Il procéderait d'abord à une ANOVA pour vérifier les écarts globaux. Il pourrait alors utiliser pour cette analyse un test *post-hoc*, comme le *test de Tukey*, qui est couramment intégré dans les progiciels statistiques et qui peut traiter des situations où le nombre d'échantillons est inégal[82]. Il convient de suivre les conseils fournis dans les sous-sections 3.3 et 7.5 de EC (2005b), où on trouve par ailleurs d'autres détails, des tests de rechange et des tests non paramétriques.

Si on souhaite comparer la toxicité des échantillons provenant de chaque lieu d'échantillonnage à celle de l'échantillon ou des échantillons de sol de référence, mais que les données ne répondent pas aux exigences de normalité de la distribution et d'égalité de la variance, l'ANOVA et les tests subséquents seraient remplacés par des tests non paramétriques. Si le nombre de réplicats est égal, on ferait appel au *test de classement multi-univoque de Steel* et, s'il ne l'est pas, au *test de sommation des rangs de Wilcoxon* avec ajustement de Bonferroni.

5.6.2 Analyse de puissance

Un facteur important à considérer quand on analyse les résultats d'essais toxicologiques sur un sol est le risque d'obtenir des faux positifs (soit de conclure qu'un *site non contaminé* est contaminé; erreur de type I) ou des faux négatifs (soit de conclure qu'un *site contaminé* est non contaminé; erreur de type II). Les chercheurs, habituellement prudents quand ils choisissent le degré de signification statistique (α) pour tolérer les faux positifs (erreurs de type I), le fixent généralement à $P = 0{,}05$ ou $0{,}01$. Le plus souvent, lorsqu'ils se conforment à un plan d'expérience précis, ils ne tiennent pas compte du lien entre puissance, variation et amplitude de l'effet et omettent de préciser la valeur de l'erreur de type II. Plusieurs facteurs peuvent avoir une incidence sur la puissance statistique, dont les suivants :

- la variation entre les réplicats représentant le même traitement;
- α (c.-à-d. la probabilité de commettre une erreur de type I);
- l'*amplitude de l'effet* (l'objet même de l'essai);
- le nombre d'échantillons ou de répétitions utilisé dans l'essai et, dans certains cas, leur affectation[83].

[82] Il existe une autre approche (EC, 1997a, 1997b, 2004a, 2005a, 2005b, 2007a). Avec un nombre égal de réplicats, il est recommandé de faire appel au *test de la plus petite différence significative de Fisher* (test PPDS). Ce test est fondé sur le plus petit « taux d'erreur par paire » relatif à α dans la comparaison de données obtenues pour des échantillons provenant d'un lieu d'échantillonnage particulier avec celles obtenues pour des échantillons provenant d'un autre lieu, tout en conservant la valeur globale de α égale à la valeur prédéterminée (habituellement 0,05). On trouve rarement le test PPDS dans les progiciels destinés aux analyses toxicologiques, mais on peut en lire la description dans certains manuels (p. ex., Steel et Torrie, 1980). C'est plutôt le *test de Tukey* qui est recommandé ici, en partie parce que le test PPDS risque de conclure trop facilement à un écart appréciable, et parce que ce dernier n'est conçu que pour un petit nombre de toutes les comparaisons possibles pour un ensemble de données, comparaisons qui doivent en outre être précisées à l'avance.

[83] Si le schéma expérimental exige la comparaison du ou des lieux d'échantillonnage à l'étude avec le lieu d'échantillonnage de référence seulement (p. ex., au moyen du *test de Dunnett* ou du *test de Williams*), on obtient une puissance optimale pour le paramètre de la longueur ou du poids sec final en affectant un nombre plus élevé de *réplicats* au lieu d'échantillonnage de référence (Dunnett, 1955; Williams, 1972; OCDE, 2006b). En règle générale, le nombre de réplicats prélevés au lieu de référence (n_a) peut être corrélé comme suit au nombre de lieux d'échantillonnage à l'étude (k) et au nombre de réplicats prélevés à chaque lieu d'échantillonnage à l'étude (n) : $n_a = n\sqrt{k}$ pour le *test de Dunnett* (OCDE, 2006b). On recommande la version modifiée suivante si le *test de Williams* est employé : $\sqrt{k}$ est remplacé par une plage comprise entre $1{,}1\sqrt{k}$ et $1{,}4\sqrt{k}$ (Williams, 1972). Dans la présente méthode, il faudrait prélever ≥5 réplicats par lieu d'échantillonnage. Si l'expérimentateur souhaite utiliser un nombre de réplicats supérieur à ce minimum, il devrait affecter des réplicats supplémentaires au lieu d'échantillonnage de référence afin de maximiser la puissance et de réduire au minimum l'erreur de type II. Prenons l'exemple suivant, qui fait appel au *test de Dunnett* : l'étude comporte un lieu d'échantillonnage de référence, quatre lieux d'échantillonnage à l'étude et cinq réplicats prélevés dans chacun des lieux d'échantillonnage à l'étude. Pour maximiser la puissance, le nombre optimal de réplicats à prélever à la station de référence serait de $n_a = n\sqrt{k} = 5 \times \sqrt{4} = 10$ réplicats.

On trouvera de plus amples explications et des conseils au sujet des erreurs de type I et II dans EC (2005b).

L'analyse de puissance peut être utilisée *a priori* pour déterminer l'ampleur de l'erreur de type II et la probabilité d'obtenir des faux positifs. On peut également s'en servir pour confirmer le nombre requis de réplicats (prélevés sur le terrain et de laboratoire) pour des études subséquentes selon la présente méthode, ou pour choisir de futurs lieux d'échantillonnage. Il est toujours prudent de prévoir dans le plan d'étude le plus grand nombre de réplicats qu'il est possible de prélever des points de vue économique et logistique (v. 5.1), ce que l'analyse de puissance aidera à déterminer. L'USEPA (2000) explique clairement ce qu'est la puissance d'un test et comment l'évaluer. On peut également trouver des conseils au sujet de l'analyse de puissance dans EC (2005b).

Dans les domaines scientifiques fondés sur la recherche, l'analyse de puissance est particulièrement utile au moment de l'établissement du plan d'expérience préliminaire (Hoenig et Heisey, 2001; Lenth, 2007; Newman, 2008). Ainsi, on exécute un essai exploratoire afin de déterminer l'écart type approximatif (variation) et de diagnostiquer les problèmes qui risquent de surgir dans l'exécution de l'essai en général. D'autres facteurs de l'analyse de puissance, comme l'amplitude de l'effet et le nombre de répétitions, peuvent ensuite être envisagés en regard de l'écart type en vue d'optimiser le plan d'expérience définitif (p. ex., le nombre de réplicats nécessaires pour détecter un effet d'une certaine amplitude).

Dans la mise au point de méthodes d'essai normalisées, l'analyse de puissance a pour objectif premier l'optimisation du plan d'expérience (ou du moins l'estimation de la puissance du plan en cours)[84]. Toutefois, il faudrait généralement prendre en considération un ensemble de données nettement plus étoffé qu'une seule estimation de la variation et de l'amplitude de l'effet. Par exemple, les spécialistes des méthodes d'essai pourraient recueillir un grand nombre d'estimations de la variation auprès de différents laboratoires et à partir de divers scénarios de contamination (Thursby et coll., 1997; van der Hoeven, 1998; Denton et coll., 2011). Les essais normalisés sont souvent employés à des fins de *surveillance* ou d'application de programmes réglementaires, lesquels peuvent préciser l'amplitude de l'effet (p. ex., 25 %) à détecter (MEA, 2007c).

[84] En 2010, l'USEPA a mis au point une approche d'analyse des données appelée *test de toxicité significative* (TTS) (USEPA, 2010). Un TTS permet de tester une hypothèse d'après la bioéquivalence, une notion largement utilisée dans la mise au point et l'évaluation de médicaments. Nous faisons état du TTS ici parce que l'analyse de puissance et le TTS ont certains buts communs (p. ex., expression a priori des erreurs des types I et II) et un contexte semblable (application d'essais normalisés).

Modes opératoires particuliers pour la mesure de la toxicité d'un sol enrichi avec une substance chimique

La présente section renferme des recommandations et des instructions sur la préparation et la mise à l'essai d'*un sol témoin négatif* enrichi en laboratoire avec une ou des substances chimiques. Ces recommandations et instructions s'appliquent à la méthode d'essai biologique décrite dans la section 4. Les conseils présentés dans EC (1995) pour *enrichir* (doper) un sédiment témoin négatif et réaliser des essais toxicologiques avec des mélanges de substances chimiques et de sédiment sont également pertinents dans le cas d'un *sol enrichi avec une substance chimique*. Il pourrait s'avérer nécessaire d'évaluer et de normaliser davantage les méthodes d'*enrichissement* (v. 6.2) avant d'exécuter des essais toxicologiques avec des plantes pour évaluer des mélanges particuliers de sol et de substances chimiques à des fins réglementaires.

On peut examiner expérimentalement la ou les causes de la toxicité du sol et les interactions *toxiques* de substances chimiques en association avec un sol par ailleurs *non contaminé* en enrichissant un sol témoin négatif (v. 3.4) avec ces substances. L'*enrichissement* peut être effectué à l'aide d'une ou de plus d'une substance chimique. Aux fins des essais toxicologiques avec des plantes de la région boréale, effectués selon les modes opératoires décrits dans la présente méthode, on peut aussi enrichir un *sol de référence* (v. 3.6) ou un *sol d'essai* (v. 3.7). Les échantillons d'horizons pédologiques prélevés séparément doivent être traités comme des échantillons distincts (v. 4.1 et 5.3). Il faut aussi les caractériser et les préparer (c.-à-d. les hydrater et les enrichir) séparément avant de les disposer en couches dans chaque récipient d'essai (v. 6.2). On peut avoir recours à des essais toxicologiques sur un sol enrichi avec une ou des substances chimiques à diverses concentrations pour recueillir des données permettant d'estimer des paramètres statistiques d'après les concentrations seuils ayant des *effets sublétaux* précis (v. 4.8).

La sous-section 6.2 décrit les modes de préparation des mélanges destinés aux essais sur un sol enrichi. La sous-section 6.3 traite des observations et mesures à effectuer en cours d'essai et à la fin de l'essai; la sous-section 6.4 explique comment estimer les paramètres dans des essais à concentrations multiples (v. aussi 4.8). Les modes opératoires décrits ici s'appliquent également au mélange de concentrations multiples d'un sol d'essai prélevé sur le terrain (y compris des déchets particulaires tels que les déblais de dragage destinés à l'épandage sur le sol) avec un sol témoin négatif ou de référence, à la réalisation d'essais à concentrations multiples et à la détermination des paramètres statistiques relatifs à ces mélanges (v. la section 5, en particulier la sous-section 5.6). Les essais à concentrations multiples sur un *sol témoin positif* (v. 3.5) ou avec un ou des *toxiques de référence* ajoutés à un sol témoin négatif (v. 4.9) sont aussi exécutés selon les modes opératoires et les méthodes statistiques décrits dans la présente section, tout comme les essais toxicologiques exécutés sur des sols enrichis en vue de déterminer l'influence des caractéristiques physicochimiques d'un sol témoin négatif naturel ou artificiel sur la toxicité des substances chimiques.

6.1 Propriétés, étiquetage et entreposage des échantillons

On devrait se renseigner sur les propriétés de la ou des substances chimiques qui seront utilisées pour enrichir un sol témoin négatif en laboratoire[85]. On devrait également disposer d'information au sujet des caractéristiques suivantes de chaque substance

[85] Certaines études pourraient exiger l'*enrichissement* (mélange) d'un *sol témoin négatif* ou d'un *sol de référence* avec une ou plusieurs concentrations de substance chimique ou de *sol d'essai* (p. ex., échantillons de sol ou de boues résiduaires contaminés ou potentiellement contaminés, prélevés sur le terrain). Dans d'autres cas, c'est plutôt le sol d'essai qu'il faudra enrichir. Pour tout essai sur des échantillons de sol ou de matière particulaire semblable contaminé (p. ex., boues ménagères ou industrielles), on devrait suivre les instructions relatives à la caractérisation des échantillons données en 5.2. L'échantillon ou les échantillons de sol témoin négatif, de sol de référence, de sol contaminé ou de déchets particulaires recueillis sur le terrain en vue d'essais toxicologiques sur un sol enrichi devraient être prélevés, étiquetés, transportés, entreposés et analysés selon les instructions fournies en 5.1 et 5.2.

chimique (p. ex., pesticides ou autres préparations commerciales) : teneur en ingrédients et impuretés importants ou « actifs », solubilité dans l'eau, pression de vapeur, stabilité chimique, constantes de dissociation, coefficients d'adsorption, toxicité pour les humains et pour les organismes terrestres, biodégradabilité. Lorsque la solubilité dans l'eau est douteuse ou problématique, on devrait faire des recherches sur les modes opératoires acceptables déjà utilisés pour préparer des solutions aqueuses de la ou des substances chimiques et consigner ces modes. En l'absence de méthode éprouvée pour dissoudre la ou les substances chimiques d'essai dans l'eau, on devrait procéder à des essais préliminaires de dissolution dans l'eau d'essai renfermant un solvant non aqueux et confirmer analytiquement la solubilité de la ou des substances. On devrait également obtenir et consigner tous les autres renseignements disponibles tels que la formule développée, la nature et le pourcentage des impuretés notables, la présence et la quantité d'additifs et le coefficient de partage *n*-octanol-eau. Enfin, on devrait se procurer et examiner toute fiche signalétique pertinente.

La substance chimique (il peut y en avoir plus d'une) à soumettre aux essais devrait au moins être de qualité réactif, sauf si un essai sur une préparation commerciale ou une substance chimique de qualité technique est exigé. Les récipients contenant la substance doivent être fermés hermétiquement et codés ou étiquetés dès leur arrivée au laboratoire. L'information exigée (nom de la substance, fournisseur, date de réception, personne chargée des essais, etc.) devrait figurer sur l'étiquette et/ou être consignée sur une feuille de données réservée à l'échantillon, selon ce qui convient le mieux. Les conditions d'entreposage (p. ex., température, protection contre la lumière) sont souvent dictées par la nature de la substance.

6.2 Préparation des mélanges d'essai

Le jour de la mise en route de l'essai (jour 0), le ou les mélanges de substances chimiques et de *sol témoin négatif* devraient être préparés et transférés dans les récipients d'essai (v. 4.1 et 4.2). On devrait préparer une quantité suffisante de chaque *lot* d'*horizon pédologique d'essai* représentant un traitement (concentration) donné, et ce, pour obtenir toutes les répétitions d'essai de ce traitement (concentration) et toutes les répétitions ou quantités additionnelles requises aux fins d'analyses physicochimiques (v. 6.3) ou d'autres essais de toxicité d'un sol avec des vers de terre ou d'autres organismes pédofauniques (p. ex., essais effectués conformément à EC, 2004a, 2005a ou 2007a).

Il est recommandé d'employer un sol témoin naturel (v. 3.4.1) comme sol témoin négatif qui sera enrichi avec une ou des substances chimiques, de même que pour la préparation des répétitions correspondantes de sol témoin qui seront incluses dans l'essai avec des plantes de la région boréale. Toute étude devrait inclure l'enrichissement des horizons pédologiques distincts du sol témoin naturel ou du sol de référence (s'il a été échantillonné) avant la reconstitution des horizons dans les récipients d'essai (v. 4.1, 5.1 et 5.3). L'épaisseur de chaque horizon transféré dans un récipient d'essai est propre à l'étude. Dans la mesure du possible, elle devrait être proportionnelle à la profondeur de l'horizon échantillonné sur le terrain ou être corrélée avec la profondeur des horizons s'ils sont très minces. Pour préparer un récipient d'essai comportant des horizons multiples, on traite chaque horizon individuellement (séchage, tamisage et homogénéisation). La teneur en humidité, la CRE et le pourcentage optimal de la CRE de chaque horizon pédologique doivent être déterminés séparément. La teneur en humidité finale de chaque horizon enrichi (y compris l'humidité due à l'ajout d'une aliquote mesurée d'une substance chimique d'essai dissoute dans l'eau d'essai, avec ou sans solvant organique) et du sol témoin prélevé sur le terrain devrait correspondre au pourcentage optimal de la CRE de chaque horizon ainsi que du sol témoin (on trouvera en 5.3 des indications à cet égard). Chaque horizon est ensuite enrichi à la concentration expérimentale convenant à un traitement donné avant son transfert dans le récipient d'essai. On doit utiliser la même concentration pour tous les horizons. Chaque couche est superposée à l'autre soigneusement afin d'éviter tout mélange accidentel du sol des différents horizons. Cependant, selon les objectifs de l'étude, les horizons pourraient être mis à l'essai séparément. Le volume total de sol dans chaque récipient d'essai est toujours de ~500 mL (c.-à-d. un poids humide équivalant à un volume de ~500 mL), mais il est constitué de divers horizons du sol d'essai.

Le volume de sol à transférer dans chaque récipient d'essai pourrait varier en raison d'écarts dans la masse volumique apparente des sols susceptibles d'être utilisés.

Il est recommandé d'employer un sol artificiel pour les essais avec un toxique de référence (v. 4.9). La quantité de sol artificiel requise pour ces essais devrait être préparée, hydratée jusqu'à obtention d'une teneur en humidité de ~20 %, traitée au besoin afin que son pH se situe dans la plage de 6,5-7,5, laissée à vieillir pendant ≥3 jours et entreposée à 4 ± 2 °C jusqu'à ce qu'on en ait besoin (v. 3.4.2). La *teneur en humidité* finale [y compris l'humidité due à l'ajout d'une aliquote mesurée d'un toxique de référence (p. ex., acide borique) dissous dans l'*eau d'essai*] de tout *sol enrichi avec une substance chimique* aux fins d'un essai toxicologique de référence sur un sol artificiel devrait correspondre à ~70 % de la CRE du mélange final (v. 3.4.2), pour chaque traitement (concentration)[86]. Tous les mélanges (traitements) inclus dans un essai toxicologique de référence devraient présenter des teneurs en humidité finales aussi semblables que possible.

Le mode opératoire à employer pour *enrichir* un sol en laboratoire dépend des objectifs de l'étude et de la nature de la substance d'essai qui est mélangée au sol témoin négatif ou à un autre sol. Très souvent, pour obtenir un mélange de sol et de substance chimique, on prépare une *solution mère* de ladite substance et on en ajoute un ou des volumes mesurés au sol témoin négatif (v. 3.4). Le solvant à privilégier pour la préparation des solutions mères est l'*eau d'essai* (eau désionisée ou distillée) pure à 100 %; à moins de nécessité absolue, on devrait éviter l'usage de tout autre solvant. Dans le cas de substances chimiques peu solubles dans l'eau d'essai, on peut utiliser une petite quantité d'un solvant organique miscible avec l'eau et relativement peu toxique (p. ex., acétone, méthanol ou éthanol) pour faciliter leur dispersion dans l'eau. On ne devrait pas employer de surfactifs.

---

[86] L'exemple suivant illustre les calculs à effectuer pour déterminer les volumes d'eau (désionisée ou distillée) et de solution mère d'un toxique de référence (acide borique) qu'il faut ajouter à un échantillon de sol artificiel possédant une teneur en humidité donnée, afin d'obtenir un traitement présentant une teneur en humidité équivalant à 70 % de la CRE du sol artificiel. Les calculs tiennent compte, dans l'ajustement global de la teneur en humidité du sol, du volume de la solution mère d'acide borique ajouté lors de la préparation du traitement. Pour simplifier les calculs, on suppose dans cet exemple que 400 g (poids sec) de sol artificiel (SA) suffisent pour fournir l'aliquote de 500 mL de sol qui sera ajoutée à chaque récipient dans un essai toxicologique de référence comportant trois récipients d'essai de répétition par traitement.

Les équations présentées en 5.3 pour le calcul de la CRE et l'ajustement de la teneur en humidité du sol à un pourcentage donné de cette valeur s'appliquent également ici. Le présent exemple part des hypothèses suivantes :

Hypothèses :

Poids humide de SA = 3,2486 g

Poids sec de SA = 2,6924g

Teneur en humidité (TH) du SA

= [(3,2486 – 2,6924)/2,6924] × 100

= 20,66 % (teneur initiale)

CRE du SA = 72,10 %

Pourcentage souhaité de la CRE (P_{CRE}) = 70,00 %

Poids sec de SA requis pour l'essai (P_S)

= [400 g par répétition × 3 répétitions] + 25 g additionnels

= 1225 g

Poids humide de SA requis pour l'essai (P_H)

= (1225,00 × 3,2486)/2,6924

= 1478,06 g

Calculs pour préparer un traitement constitué de 2000 mg d'acide borique par kilogramme de sol artificiel (poids sec) :

La solution mère renferme 25 g d'acide borique (H_3BO_3) par litre d'eau désionisée.

Quantité de H_3BO_3 requise (poids sec) :

H_3BO_3

= [(2 g de H_3BO_3/1000 g de sol (poids sec)] × 1225 g (poids sec)

= 2,45 g de H_3BO_3

Quantité de solution mère requise (volume) :

H_3BO_3

= 2,45 g de H_3BO_3/(25 g de H_3BO_3/1000 mL d'eau)

= 98 mL de solution mère

Pourcentage d'eau (P_E) à ajouter à ce traitement pour obtenir le pourcentage désiré de la CRE (70 %) :

P_E = [CRE × (P_{CRE} /100)] – TH

= [72,10 × (70,00/100)] – 20,66

= 29,81 %

Volume d'eau (V_E) à ajouter à ce traitement pour obtenir le pourcentage désiré de la CRE (70 %) :

V_E = (P_E × P_S) / 100

= [29,81 × 1225 g (poids sec)]/100

= 365,17 mL d'eau

Toutefois, dans le volume requis, il faut ajouter 98 mL de solution mère pour le dosage; par conséquent, il suffira d'ajouter seulement 267,17 mL d'eau (365,17 mL d'eau – 98 mL de solution mère).

Le poids final total de sol requis (poids humide) serait donc de 1843,23 g [1478,06 g (poids humide) de sol à la teneur en humidité initiale (P_H) + 267,17 mL d'eau + 98 mL de solution mère], et la teneur en humidité finale du sol (poids sec) serait de 50,47 % {[(1843,23 – 1225,00)/1225,00] × 100}.

La teneur en humidité finale de ce traitement d'essai (50,47 %) représente 70 % de la CRE du sol d'essai (50,47 ÷ 72,10 = 0,70).

Si on a recours à un solvant organique, l'essai doit comprendre deux séries de récipients d'essai de répétition, dont une ne contenant que du sol témoin négatif (c.-à-d. un sol *non contaminé* ne renfermant aucun solvant ni substance d'essai) et une autre, qu'un *témoin sol-solvant* (OCDE, 2006a; ASTM, 2009; EC, 2000). À cette fin, on doit préparer un *lot* de témoin sol-solvant contenant la même concentration d'agent solubilisant que l'échantillon de sol enrichi contenant la plus forte concentration de la ou des substances chimiques d'essai. Le solvant doit provenir du *lot* qui a servi à préparer la solution mère de la ou des substances d'essai. Cela dit, on devrait utiliser les solvants avec parcimonie, car ils pourraient contribuer à la toxicité du *sol d'essai* ainsi préparé. La concentration maximale de solvant dans le sol ne devrait pas influer sur la *levée* ou la *croissance* des plantes pendant l'essai. Si on ne connaît pas cette concentration, on devrait effectuer un essai préliminaire, *avec solvant seulement*, à diverses concentrations dans un sol témoin négatif, afin de déterminer la concentration avec effet de seuil du solvant qu'on prévoit utiliser dans l'essai définitif.

Les concentrations de la ou des substances chimiques dans le sol sont habituellement calculées, mesurées et exprimées en milligrammes de substance par kilogramme de sol (ou en microgrammes par gramme), selon le poids sec (OCDE, 2006a; ISO, 2012a, 2012b). Les paramètres (p. ex., les CI_p) sont également exprimés en fonction du poids sec (v. 4.8).

Les conditions de mélange, y compris le ratio solution d'essai-sol, de même que les durées et les températures de mélange et de conservation, doivent être uniformes d'un traitement à un autre dans un essai donné. La durée de mélange d'un *sol enrichi* devrait être suffisante pour assurer une répartition homogène de la substance chimique, ce qui pourrait prendre de quelques minutes à 24 h. Pendant le mélange, on devrait maintenir la température assez basse pour réduire au minimum l'activité microbienne et l'altération des caractéristiques physicochimiques du mélange. Il est conseillé d'analyser des sous-échantillons afin de déterminer le degré de mélange et d'homogénéité obtenu.

Certaines études pourraient n'exiger qu'une concentration d'un mélange de sol témoin négatif (ou autre) et de substance chimique, ou encore une seule concentration de sol *contaminé* ou de déchet particulaire dans un sol témoin négatif ou autre. Par exemple, un essai à concentration unique pourrait avoir pour objet de déterminer si une concentration donnée de substance chimique dans un sol *non contaminé* est *toxique* pour les organismes expérimentaux. Un tel essai pourrait servir à la recherche ou à des fins réglementaires (p. ex., essai « limite »).

On devrait exécuter, dans des conditions normalisées, un essai à concentrations multiples sur un *sol témoin négatif* (ou autre) afin de déterminer le ou les paramètres souhaités (p. ex., CI_p; v. 4.8) de chaque mélange de substance chimique et de sol. Un essai à concentrations multiples sur un sol témoin négatif enrichi avec un déchet particulaire donné pourrait aussi convenir. Il faut alors prévoir ≥9 concentrations d'essai plus le ou les traitements témoins appropriés; on recommande toutefois d'en préparer un plus grand nombre (≥11 plus des témoins) (v. 4.1 et 4.8). Pour choisir les concentrations d'essai, on peut se servir d'une série de dilutions géométriques, où chaque concentration de substance chimique dans le sol correspond à au moins la moitié de la précédente dans la série (p. ex., 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63 mg/kg). On peut aussi employer des dilutions logarithmiques (v. annexe G), ou encore se fonder sur les résultats d'essais toxicologiques préliminaires.

Pour choisir la plage de concentrations qui convient, il pourrait être utile de réaliser un essai préliminaire englobant une plage de concentrations plus étendue. Dans un tel essai, on pourrait réduire le nombre de répétitions par traitement (v. 4.1) ou n'utiliser aucune répétition. Selon la variance prévue ou démontrée (dans des études antérieures sur une substance d'essai identique ou semblable) entre les récipients d'essai d'un traitement, cette réduction pourrait s'appliquer aux *essais toxicologiques* préalables exécutés à des fins non réglementaires ou de recherche.

Selon les objectifs de l'essai, il pourrait être souhaitable de déterminer l'influence des caractéristiques du substrat (p. ex., granulométrie ou TMO) sur la toxicité des mélanges de sol et de substance chimique. Par exemple, on pourrait

mesurer l'influence de la granulométrie du sol sur la toxicité de la substance par des essais parallèles à concentrations multiples sur une série de mélanges de la substance chimique dans différentes fractions (c.-à-d. des grains de diverses tailles) ou dans divers types de *sol témoin négatif* (v. 3.4). De même, on pourrait déterminer dans quelle mesure la teneur en *COT* ou la *TMO* du sol ou des horizons de sol peut modifier la toxicité de la substance chimique en exécutant des essais parallèles à concentrations multiples sur différents mélanges de substance chimique et de sol préparés avec une série de sols témoins négatifs enrichis avec une matière organique. On devrait intégrer dans l'essai, en tant que témoin distinct, chaque fraction ou préparation de sol témoin négatif utilisée pour préparer ces mélanges.

6.3 Observations et mesures

Au moment du démarrage de l'essai, il faudrait procéder à une description qualitative de chaque mélange de *sol enrichi avec une substance chimique*. Cette description pourrait inclure des observations relatives à la couleur, à la texture et à l'homogénéité apparente du mélange. Toute modification de l'aspect du mélange observée au cours de l'essai ou à la fin devrait être consignée.

On trouvera en 4.6 les marches à suivre et les exigences connexes aux observations et mesures à effectuer au début, au cours et à la fin de l'essai. Ces observations et mesures s'appliquent aux essais sur un sol enrichi avec une substance chimique, tels qu'ils sont décrits ici, et sont donc obligatoires. Les mesures doivent porter sur chaque horizon pédologique.

Selon le schéma expérimental et les objectifs de l'essai, on pourrait préparer des récipients d'essai supplémentaires au début de l'essai (v. 4.1) dans le but de surveiller la composition chimique du sol. Ces récipients feraient l'objet d'un échantillonnage destructif au cours ou à la fin de l'essai. On pourrait ajouter ou non des organismes expérimentaux dans ces récipients supplémentaires, selon les objectifs de l'étude. Pour mesurer les concentrations de la ou des substances chimiques dans les horizons de sol de ces récipients, on pourrait en prélever des aliquotes aux fins des différentes analyses, au début, au cours et/ou à la fin de l'essai, selon la nature du toxique et les objectifs de l'essai.

Des mesures de la qualité (c.-à-d. le pH et la teneur en humidité) de chaque horizon de *sol enrichi* soumis à l'essai (y compris le *sol témoin négatif*) doivent être effectuées et consignées au début et à la fin de l'essai pour le pH et au début seulement pour la teneur en humidité, comme il est expliqué en 4.6. Si on dispose de la capacité d'analyse voulue, il est recommandé d'analyser la ou les *solutions mères* en parallèle avec un ou des sous-échantillons de chaque mélange de sol enrichi afin de mesurer les concentrations de la ou des substances chimiques et de déterminer si le sol a été enrichi de manière satisfaisante. Ces échantillons devraient être conservés, entreposés et analysés selon des méthodes convenables et éprouvées.

Pour tout essai toxicologique dans lequel on a dosé les substances chimiques dans chaque horizon de sol enrichi, on devrait calculer et exprimer les résultats en fonction de ces dosages, à moins d'avoir de bonnes raisons de croire qu'ils ne sont pas exacts. On devrait au moins prélever des aliquotes des échantillons représentatifs des concentrations élevée, moyenne et faible au début et à la fin de l'essai[87]; les valeurs des paramètres seraient alors calculées en fonction des valeurs nominales (v. 4.8 et 6.4). Tous les dosages devraient être comparés, consignés et analysés sous l'angle de leur degré d'écart par rapport aux valeurs nominales. Si on se sert de ces valeurs pour exprimer les résultats d'un essai toxicologique, on doit l'indiquer explicitement dans le rapport d'essai (v. 7.1.6).

6.4 Paramètres et calculs

Les essais à concentrations multiples sur des mélanges de *sol enrichi* sont caractérisés par des paramètres statistiques qui leur sont propres (v. 4.8). Des conseils relatifs au calcul de la CI_p (à partir de données dénotant une inhibition de la croissance; v. 4.8) sont fournis en 4.8.2. Les indications présentées en 5.6 au sujet du calcul et de la comparaison des paramètres pour les essais à

[87] Il peut avoir été démontré que certaines substances chimiques sont stables dans les conditions particulières de l'essai et que leur concentration est peu susceptible de changer au cours de l'essai. Dans ce cas, l'expérimentateur pourrait choisir d'analyser seulement des échantillons prélevés au début de l'essai.

concentration unique sur des échantillons de sol prélevés sur le terrain s'appliquent également aux essais à concentration unique sur des mélanges de sol enrichi. Pour en savoir plus au sujet des méthodes statistiques paramétriques (ou non paramétriques) applicables aux paramètres de l'essai, les expérimentateurs sont invités à consulter EC (2005b).

Dans tout essai incluant un *témoin sol-solvant* (v. 6.2), il faut examiner les résultats obtenus pour les plantes cultivées dans ce témoin et dans le *sol témoin négatif* afin de déterminer s'ils sont respectivement conformes aux critères de validité de l'essai (v. 4.7). Si ces critères ne sont pas satisfaits pour l'un ou l'autre témoin, on doit considérer que les résultats de l'essai sont invalides. S'ils sont satisfaits dans les deux cas, il faut comparer les résultats obtenus à l'aide du *test t*. Lorsque les résultats pour les deux témoins ne sont pas statistiquement différents, on devrait utiliser seulement les données relatives au *sol témoin négatif* pour le calcul des résultats de l'essai[88]. Toutefois, si la longueur finale des pousses ou des racines ou le poids sec final diffère grandement entre les deux témoins, cela pourrait indiquer l'existence d'une interférence possible du solvant, et on devrait alors procéder à une évaluation supplémentaire pour en mesurer l'incidence sur la validité de l'essai. On trouve dans USEPA (2008) des indications sur ce que pourrait inclure une telle évaluation : 1) degré de pertinence de la réponse dans le témoin sol-solvant (à savoir le pourcentage de changement par rapport à la réponse dans le sol témoin); 2) degré de signification statistique connexe à la différence entre les deux témoins (c.-à-d. écart hautement ou très peu significatif); 3) ampleur de l'interférence (réponses différentes pour les deux paramètres ou pour un seul); 4) examen de toute autre cause potentielle de l'interférence observée dans le témoin sol-solvant; 5) incidence de cette interférence possible sur l'incertitude de l'estimation du *risque*. Si on détecte une interférence attribuable au solvant, le témoin sol-solvant devrait servir de base au calcul des résultats.

[88] L'USEPA recommande de ne pas utiliser les données relatives au témoin sol-solvant pour le calcul des résultats parce qu'il faut alors partir de l'hypothèse selon laquelle les effets du solvant et du toxique sont indépendants les un des autres et que les schémas expérimentaux actuels ne permettent pas de vérifier cette hypothèse (K. Sappington, Office of Pesticide Programs, USEPA, Washington, DC, comm. écrite, 2012).

Rapports à produire

Le rapport relatif à chaque essai doit mentionner tout écart par rapport aux *exigences* exposées dans les sections 2 à 6 de la présente méthode et, le cas échéant, fournir des précisions. Le lecteur doit pouvoir déterminer, à partir de ce rapport, si les conditions et les modes opératoires préalables et expérimentaux ont rendu les résultats valides et acceptables pour l'usage qu'on entend en faire.

La sous-section 7.1 ci-après énumère les renseignements à inclure dans le rapport relatif à chaque essai. Les renseignements devant être intégrés dans le rapport d'essai, fournis séparément dans un rapport général ou conservés pendant ≥5 ans sont précisés en 7.2. Des programmes particuliers de *surveillance*, des *protocoles* expérimentaux connexes ou des règlements pourraient exiger de faire figurer dans le rapport d'essai ou de *conserver dans les dossiers* les renseignements énumérés en 7.2 (p. ex., précisions sur la substance ou matière d'essai et/ou sur les conditions et modes opératoires relatifs au prélèvement, à la manipulation, au transport et à l'entreposage des échantillons).

On peut citer les conditions et modes opératoires communs à une série d'essais courants (p. ex., les essais de toxicité exécutés régulièrement à des fins de *surveillance* ou de *conformité* aux règlements) et satisfaisant aux exigences de la présente méthode; on peut aussi joindre un rapport général exposant dans ses grandes lignes la pratique ordinairement suivie en laboratoire.

Les précisions concernant la conduite et les résultats de l'essai qui ne sont incluses ni dans le rapport d'essai ni dans un rapport général doivent être consignées et conservées par le laboratoire pendant ≥5 ans, de sorte qu'on puisse fournir l'information pertinente si l'essai doit faire l'objet d'une vérification. Cette information peut comprendre les éléments suivants :

- le formulaire de la chaîne de possession des échantillons prélevés sur le terrain ou autres, mis à l'essai à des fins de *surveillance* ou d'application d'un règlement;
- une copie du dossier d'acquisition de l'échantillon ou des échantillons;
- les résultats des analyses chimiques de l'échantillon ou des échantillons ne figurant pas dans le rapport d'essai;
- les notes de laboratoire sur les observations et les mesures effectuées au cours de l'essai;
- les notes de laboratoire et la ou les cartes de contrôle des essais toxicologiques de référence;
- les dossiers détaillés concernant l'origine des organismes expérimentaux, leur confirmation taxinomique et toute l'information utile concernant leur tri, leur conditionnement et leur entreposage;
- des renseignements sur l'étalonnage de l'équipement et des instruments.

Le personnel de laboratoire effectuant les essais doit signer ou parapher les feuilles de données originelles et les dater.

7.1 Exigences minimales pour le rapport d'essai

Voici la liste des renseignements à inclure dans le rapport relatif à chaque essai.

7.1.1 Substance ou matière d'essai

- courte description du type d'échantillon (p. ex., sol de référence ou sol contaminé prélevé sur le terrain, sol témoin négatif) ou du codage de l'échantillon, tel qu'il a été fourni au personnel de laboratoire;
- renseignements sur l'étiquetage ou le codage de chaque échantillon;
- renseignements sur les horizons pédologiques, tels qu'ils ont été prélevés (nombre, profondeur relative et classification de chacun) en tant que sol

d'essai, sol de référence et sol témoin négatif, le cas échéant;

- date du prélèvement de chaque échantillon; date et heure de réception de chaque échantillon au laboratoire d'essais.

7.1.2 Organismes expérimentaux

- espèce et provenance des graines;
- nom scientifique et numéro de lot des graines;
- durée et méthode de stratification des graines et de séparation à l'éthanol, le cas échéant;
- tout aspect ou traitement inhabituel des graines avant leur utilisation dans l'essai.

7.1.3 Installations

- nom et adresse du laboratoire d'essais;
- nom de la ou des personnes ayant exécuté l'essai (ou chacune des parties de celui-ci).

7.1.4 Méthode d'essai

- nom de la méthode d'essai biologique (à savoir celle décrite dans le présent document);
- plan d'étude et description de toute procédure spéciale (p. ex., préparation des mélanges de *sol enrichi*; préparation et emploi d'un solvant et, dans ce cas, du témoin sol-solvant) ou de toute modification apportée à la méthode normalisée;
- brève description de la reconstitution des horizons dans les récipients d'essai (p. ex., poids humide et/ou épaisseur de chaque horizon), le cas échéant;
- brève description de la fréquence et de la nature de toutes les observations et mesures effectuées au cours de l'essai;
- nom du ou des programmes et des méthodes employés pour calculer les paramètres statistiques et renvois à ces programmes et méthodes.

7.1.5 Conditions et modes opératoires

- raison et description de tout écart ou de toute omission en regard des conditions et modes opératoires exposés dans le présent document;
- nombre d'échantillons distincts par traitement; nombre de répétitions par traitement; nombre et description des traitements de chaque essai, y compris le ou les témoins; concentrations d'essai (s'il y a lieu);
- quantité de sol (volume et/ou masse) par récipient d'essai;
- nombre de graines par récipient d'essai et par traitement;
- dates du début et de la fin de l'essai;
- mesures de l'intensité lumineuse en un point adjacent à la surface du sol dans les récipients d'essai;
- pour chaque échantillon de sol : toutes les mesures relatives à la granulométrie, à la teneur en humidité, à la CRE, au pH et à la conductivité;
- pour chaque échantillon composite de sous-échantillons prélevés au même moment dans toutes les répétitions de chaque traitement : ensemble des mesures relatives à la température, au pH, à la teneur en humidité et à la CRE.

7.1.6 Résultats

- taux de levée des plantes dans chaque récipient à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42, selon l'espèce);
- taux moyen (± ET) de levée des plantes dans le ou les sols témoins à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42, selon l'espèce) (critère de validité de l'essai);
- longueur moyenne (± ET) des pousses des plantes individuelles survivantes (v. la note de bas de page n° 44) dans chaque traitement (y compris le ou les sols témoins et de référence) à la fin de

l'essai; longueur moyenne (± ET) des racines des plantes individuelles survivantes dans chaque traitement à la fin de l'essai; poids sec moyen (± ET) des pousses des plantes individuelles survivantes dans chaque traitement à la fin de l'essai; poids sec moyen (± ET) des racines des plantes individuelles survivantes dans chaque traitement à la fin de l'essai;

- poids humide moyen (± ET) des pousses et des racines des plantes individuelles survivantes dans chaque traitement (y compris le ou les sols témoins et de référence) à la fin de l'essai, s'il est déterminé;

- toute CI_p (et ses limites de confiance à 95 %) qui a été déterminée d'après les données sur la croissance (longueur des pousses et des racines et poids sec et humide des pousses et des racines des plantes individuelles survivantes à la fin de l'essai); précisions relatives à toute transformation des données et indication de la méthode statistique quantitative utilisée ou des procédures appliquées aux données;

- essai à concentrations multiples sur un *sol enrichi avec une substance chimique* : indication selon laquelle les résultats se fondent sur des concentrations nominales ou mesurées de la substance chimique; toutes les valeurs des concentrations mesurées;

- résultats pour toute CI_p 14, 21, 28 ou 35 jours (selon l'espèce) (et ses limites de confiance à 95 %) du *toxique de référence* évalué parallèlement à l'essai définitif de toxicité du sol, avec des graines provenant du même lot; valeur de la *moyenne géométrique* (±2 ET) pour le même toxique de référence et la même espèce expérimentale, obtenue par le laboratoire dans des essais antérieurs de 14, 21, 28 ou 35 jours exécutés selon les conditions et modes opératoires décrits ici pour les essais avec un toxique de référence;

- toute anomalie dans le déroulement de l'essai, tout problème observé et toute mesure corrective mise en œuvre.

7.2 Exigences supplémentaires

Voici la liste des renseignements qu'il faut soit inclure dans le rapport d'essai ou le rapport général, soit conserver dans les dossiers pendant ≥5 ans :

7.2.1 Substance ou matière d'essai

- nom de la ou des personnes qui ont prélevé et/ou fourni l'échantillon;

- chaîne de possession et fiches d'inscription de l'échantillon;

- état (p. ex., température, conservation dans l'obscurité, dans un récipient fermé hermétiquement) de l'échantillon à la réception au laboratoire et pendant l'entreposage.

7.2.2 Organismes expérimentaux

- nom et adresse du fournisseur de graines;

- année de collecte (le cas échéant), taille du paquet, numéro du lot, taux de germination annoncé, date de germination annoncée, date de l'achat, nom du fournisseur, date à laquelle le paquet de graines a été ouvert;

- description des procédures de tri et de stratification des graines;

- description des conditions et modes d'entreposage, y compris la température et la durée de l'entreposage du lot de graines;

- résultats de toute évaluation du taux de germination avant l'essai.

7.2.3 Installations d'essai et appareillage

- tous les résultats des essais initiaux sur un sol témoin négatif et avec un toxique de référence, entrepris par le laboratoire alors qu'il ne possédait pas d'expérience dans l'application de la méthode d'essai biologique décrite ici, avant tout rapport concernant les résultats d'un essai définitif (v. 3.2.1);

- description des systèmes d'éclairage et de régulation de la température dans l'installation d'essai;

- description des récipients d'essai et des couvercles;

- description des méthodes employées pour nettoyer ou rincer le matériel.

*7.2.4 **Sol témoin négatif ou sol de référence***

- modes opératoires de préparation (dans le cas d'un *sol artificiel*) ou *prétraitement* (dans le cas d'un sol naturel) du *sol témoin négatif*;

- provenance du sol naturel; historique de l'utilisation de pesticides ou d'autres contaminants et rapports d'analyses;

- préparation du sol artificiel, y compris les sources des constituants et les conditions et modes opératoires pour l'hydratation du sol et l'ajustement du pH;

- conditions et durée de l'entreposage avant l'utilisation.

*7.2.5 **Méthode d'essai***

- modes opératoires de mélange ou de manipulation des sols d'essai avant leur utilisation; temps écoulé entre la préparation des sols et la réalisation de l'essai;

- mode opératoire de préparation des solutions mères et/ou des solutions d'essai de substances chimiques; description et concentration de tout solvant utilisé;

- précisions sur le prélèvement, la préparation et l'entreposage d'aliquotes avant les analyses physicochimiques; information disponible au sujet des méthodes d'analyse employées (avec renvois);

- exécution et description d'un essai préliminaire.

*7.2.6 **Conditions et modes opératoires***

- mode opératoire employé pour déposer les graines dans les récipients d'essai;

- humidité relative dans l'installation d'essai (facultatif);

- aspect de chaque échantillon (ou mélange d'échantillons) dans les récipients d'essai; tout changement d'aspect observé pendant l'essai;

- données sur l'hydratation des échantillons de *sol d'essai* de chaque récipient tout au long de l'essai; description qualitative de l'assèchement des échantillons de sol pendant l'essai (p. ex., taux, aspect);

- toute autre analyse physicochimique (p. ex., analyses d'aliquotes provenant du même *lot* afin de déterminer la conductivité, l'homogénéité, la concentration des contaminants, les solides volatils totaux, la demande biochimique en oxygène, la demande chimique en oxygène, la teneur en carbone inorganique total, la *CEC*, le *potentiel d'oxydoréduction*, la teneur en azote total) effectuée avant et pendant l'essai sur la matière d'essai (y compris le *sol témoin négatif* et le *sol de référence*) et le contenu des récipients d'essai, y compris les analyses du sol entier et de l'eau de porosité;

- toute autre observation ou analyse faite sur la matière d'essai (y compris les échantillons de *sol témoin négatif* ou de *sol de référence*), par exemple, les données qualitatives et/ou quantitatives sur la macrofaune indigène ou les détritus, ou les résultats d'analyses géochimiques;

- toute analyse chimique de la concentration de substance chimique dans la ou les *solutions mères* du *toxique de référence* et, le cas échéant, dans les concentrations d'essai.

*7.2.7 **Résultats***

- résultats de tout essai préliminaire;

- nombre de plantules levées et observations relatives à l'état des plantules dans chaque récipient d'essai, selon les notes prises pendant chaque période d'observation au cours de l'essai;

- nombre de plantes survivantes dans chaque récipient d'essai à la fin de l'essai (jour 28, 35 ou 42); longueur moyenne des pousses et des racines individuelles; poids sec des pousses et des racines dans les répétitions et poids sec moyen des pousses et des racines individuelles (de même que, le cas échéant, le poids humide des pousses et des racines) des plantes survivantes dans chaque récipient à la fin de l'essai; pour les analyses de régression, conserver dans les dossiers les données relatives au nombre

d'échantillons (p. ex., nombre de répétitions par traitement), les valeurs estimatives des paramètres avec la variance, tout tableau ANOVA produit, les graphiques des valeurs ajustées et observées de tout modèle utilisé et les données de sortie du programme statistique (p. ex., SYSTAT et CETIS);

- cartes de contrôle (des CI_p d'après la longueur des racines) montrant les résultats les plus récents et les résultats antérieurs d'essais toxicologiques employant le même toxique de référence et les mêmes espèces d'organismes expérimentaux;
- représentation graphique des données;
- originaux des notes de laboratoire et d'autres feuilles de données, signés et datés par les membres du personnel du laboratoire qui ont effectué les essais et les analyses connexes.

Références

AAC (Agriculture et Agro-alimentaire Canada), *Le système canadien de classification des sols (troisième édition)*, Publication n° 1646, Groupe de travail sur la classification des sols, Agriculture et Agroalimentaire Canada, Presses scientifiques du Conseil national de recherches du Canada, Ottawa (ON) (1998).

———, *Cadre écologique du Canada – Descriptions des écozones et écorégions*, en ligne : http://ecozones.ca/francais/zone/index.html (sans date).

AESA (Alberta Environmentally Sustainable Agriculture Program), *AESA Soil Quality Benchmark Study – Soil Organic Matter*, Factsheet FS2001-ISQ, ASEA Soil Quality Program, Conservation and Development Branch, Alberta Agriculture, Food and Rural Development, Edmonton (AB) (2001).

Ancient Forest Exploration and Research, *Ontario's Oldest Trees*, en ligne: www.ancientforest.org/oldtrees. htm (date d'accès : 6 janvier 2013) (sans date).

Angell, R.A., S. Kullman, E. Shrive, G.L. Stephenson et M. Tindal, « Direct Soil Contact Values for Ecological Receptors Exposed to Weathered Petroleum Hydrocarbon (PHC) Fraction 2 », *Environ. Toxicol. Chem.*, 31(11):2536-2544 (2012).

Aquaterra Environmental, *Development of Plant Toxicity Tests for Assessment of Contaminated Soils*, rapport préparé par Aquaterra Environmental, Ltd., Orton (ON), pour la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1998).

Aquaterra Environmental et ESG (ESG International Inc.), *Assessment of the Biological Test Methods for Terrestrial Plants and Soil Invertebrates: Metals*, rapport final préparé par Aquaterra Environmental, Ltd., Orton (ON) et ESG International Inc., Guelph (ON), pour la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2000).

ASTM (ASTM International), *Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm* Eisenia Fetida *and the Enchytraeid Potworm* Enchytraeus albidus, E1676-04, West Conshohocken (PA) (2004).

———, *Standard Guide for Use of Lighting in Laboratory Testing*, E-1733-95, West Conshohocken (PA) (2008).

———, *Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests*, E1963-09, West Conshohocken (PA) (2009).

Baskin, C.C., et J.M. Baskin, « Propagation Protocol for Production of Container *Picea mariana* (Miller) Britton plants », Université du Kentucky, Lexington, Kentucky, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2002).

Becker-van Slooten, K., S. Campiche et J. Tarradellas, *Research in Support of the Environment Canada Soil Toxicity Test Methods: Consideration of Various Methods for Measuring Soil pH, Water Holding Capacity, and Water Filled Pore Space*, rapport préparé par le Laboratoire de chimie environnementale et écotoxicologique, École polytechnique fédérale de Lausanne, (Lausanne, Suisse) pour la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2004).

Best, K.F., J. Looman et J.B. Campbell, *Prairie Grasses Identified and Described by Vegetative Characters*, publication n° 1413, ministère de l'Agriculture du Canada (1971).

Bevington, J.M., et M.C. Hoyle, « Phytochrome Action during Prechilling Induced Germination of *Betula papyrifera* Marsh.», *Plant Physiol.*, 67:705-710 (1981).

Bjorkbom, J.C., *Production and Germination of Paper Birch Seed and its Dispersal into a Forest Opening*, Res. Pap. NE-209, Northeastern Forest Experiment Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Upper Darby (PA) (1971).

Bjorkroth, G., *Separation of Birch Seed in Liquids According to Density*, Proc. Int. Symp., Seed Processing, Vol. 1, IUFRO Work Part, S2.01.06, Bergen, Norvège (1973).

Bonnell Environmental Consulting, *Assessment of Soil Toxicity Test Species for Canadian Representativeness*, rapport technique TS-28, préparé par Bonnell Environmental Consulting, Ottawa (ON), pour la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada (1994).

Boutin, C., et C.A. Rogers, « Pattern of Sensitivity of Plant Species to Various Herbicides - An Analysis with Two Databases », *Ecotoxicol.*, 9:255-271 (2000).

Boutin, C., N. Elmegaard et C. Kjaer, « Toxicity Testing of Fifteen Non-Crop Plant Species with Six Herbicides in a Greenhouse Experiment: Implications for Risk Assessment », *Ecotoxicol.*, 13(4):349–369 (2004).

Boutin, C., H.B. Lee, E.T. Peart, P.S. Betchelor et R.J. Maguire, « Effects of the Sulfonylurea Herbicide Metsulfuron Methyl on Growth and Reproduction of Five Wetland and Terrestrial Plant Species », *Environ. Toxicol. Chem.*, 19(10):2532-2541 (2000).

Boutin, C., A.L. White et D. Carpenter, « Measuring Variability in Phytotoxicity Testing using Crop and Wild Plant Species », *Environ. Toxicol. Chem.*, 29(2):327-337 (2010).

Butler, J., et C. Frieswyk, « Propagation Protocol for Production of *Calamagrostis canadensis* seeds », USDI NPS - Rocky Mountain National Park, Estes Park, Colorado, dans *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2001).

Callahan, C.A., C.A. Menzie, D.E. Burmaster, D.C. Wilborn et T. Ernst, « On-Site Methods for Assessing Chemical Impact on the Soil Environment Using Earthworms: A Case Study at the Baird and McGuire Superfund Site, Holbrook, Massachusetts », *Environ. Toxicol. Chem.*, 10:817-826 (1991).

Carey, J.H., « *Pinus banksiana* » dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne : www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (1993).

Carter, M.R. (dir.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*, Lewis Publishers, CRC Press Inc., Boca Raton (FL) (1993).

CCME (Conseil canadien des ministres de l'environnement), *A Framework for Ecological Risk Assessment at Contaminated Sites in Canada: Review and Recommendations*, Programme national d'assainissement des lieux contaminés, série scientifique 1999, Direction de l'évaluation et de l'interprétation, Direction générale de la conservation des écosystèmes, Ottawa (ON) (1994).

———, *Cadre pour l'évaluation du risque écotoxicologique : Orientation générale*, PN 1196, Sous-comité du CCME sur les critères de qualité environnementale pour les lieux contaminés, Programme national d'assainissement des lieux contaminés, Winnipeg (MB) (1996).

———, *Cadre pour l'évaluation du risque écotoxicologique : Annexes techniques*, PN 1274, Sous-comité du CCME sur les critères de qualité environnementale pour les lieux contaminés, Programme national d'assainissement des lieux contaminés, Winnipeg (MB) (1997).

———, *Canada-Wide Standard for Petroleum Hydrocarbons (PHC) in Soil: Scientific Rationale, Supporting Technical Document*, PN 1399, Winnipeg (MB) (2008).

Cermak, J.H., G.L. Stephenson, D. Birkholz, Z. Wang et D.G. Dixon, « Toxicity of Petroleum Hydrocarbon Distillates to Soil Organisms », *Environ. Toxicol. Chem.*, 29(12):2685-2694 (2010).

Chaineau, C.H., J.L. Morel et J. Oudot, « Phytotoxicity and Plant Uptake of Fuel Oil Hydrocarbons », *J. Environ. Qual.*, 26:1478-1483 (1997).

Coladonato, M., « *Solidago canadensis* », dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne : www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 22 septembre 2010) (1993).

Courchesne, F., S. Savoie et A. Dufresne, « Effects of Air-Drying on the Measurement of Soil pH in Acidic Forest Soils of Quebec, Canada », *Soil Science*, 160(1):56-68 (1995).

Crépin, J., et R.L. Johnson, « Soil Sampling for Environmental Assessment », dans : *Soil Sampling and Methods of Analysis*, M.R. Carter (dir.), Lewis Publishers, CRC Press Inc., Boca Raton (FL) (1993).

Croser, C., S. Renault, J. Franklin et J. Zwiazek, « The Effect of Salinity on the Emergence and Seedling Growth of *Picea mariana*, *Picea glauca*, and *Pinus banksians* », *Environmental Pollution*, 115:9-16 (2001).

Dalton, R.C., et C. Boutin, « Comparison of the Effects of Glyphosate and Atrazine Herbicides on Nontarget Plants Grown Singly and in Microcosms », *Environ. Toxicol. Chem.*, 29(10):2304-2315 (2010).

Day, R.A., R.P. Walter, J.J. Kozar, S.J. Bricker et J.G. Bowers, « Propagation Protocol for Bareroot Bigtooth and Quaking Aspen Using Seeds », *Native Plants Journal*, 4(2):125-128 (2003).

Deitzer, G., « Spectral Comparisons of Sunlight and Different Lamps » *c74*, dans : *Proceedings of International Lighting in Controlled Environments Workshop*, T. W. Tibbits (dir.), 1er mars 1994, Madison (WI) (1994).

Denton, D., J. Diamond et L. Zheng, « Test of Significant Toxicity: A Statistical Application for Assessing Whether an Effluent or Site Water is Truly Toxic », *Environ. Toxicol. Chem.*, 30:1117-1126 (2011).

Dunnett, C.W., « A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control », *J. Amer. Stat. Assoc.*, 50:1096-1121 (1955).

Earle, C.J., « *Picea glauca* », dans : *The Gymnosperm database*, en ligne : www.conifers.org/pi/Picea_glauca.php (date d'accès : 7 janvier 2013) (2009a).

———, « *Pinus banksiana* », dans : *The Gymnosperm database*, en ligne : www.conifers.org/pi/Pinus_banksiana.php (date d'accès : 7 janvier 2013) (2009b).

EC (Environnement Canada), *Document d'orientation sur la mesure de la précision des essais de toxicité sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence*, Rapport SPE 1/RM/30, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1995).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de survie et de croissance de l'amphipode dulcicole* Hyalella azteca, Rapport SPE 1/RM/33, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1997a).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de survie et de croissance des larves dulcicoles de chironomes (*Chironomus tentans *ou* Chironomus riparius*)*, Rapport SPE 1/RM/32, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1997b).

———, *Guide des essais écotoxicologiques employant une seule espèce et de l'interprétation de leurs résultats*, Rapport SPE 1/RM/34, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1999a).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole*, Lemna minor, Rapport SPE 1/RM/37, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (1999b).

———, *Standard Operating Procedure for Conducting Early Seedling Growth Bioassays*, EC50V1.1, Section de l'écotoxicologie, Centre des sciences environnementales du Pacifique, North Vancouver (BC) (2000).

———, *Méthode d'essai biologique : essais pour déterminer la toxicité des sols contaminés pour les vers de terre (*Eisenia andrei, Eisenia fetida *ou* Lumbricus terrestris*)*, Rapport SPE 1/RM/43 (incluant les modifications apportées en 2007), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2004a).

———, *Proceedings to the Workshop on Toxicity Test Methodologies for Assessing the Impacts of Contaminant Mixtures in Soil Using Terrestrial Species of Ecological Relevance to Canadian Soil Systems*, compte rendu de l'atelier tenu du 19 au 21 février 2003 au Centre des sciences environnementales du Pacifique, North Vancouver (BC), publié par la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2004b).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres exposées à des contaminants dans le sol*, Rapport SPE 1/RM/45 (incluant les modifications apportées en 2007), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2005a).

———, *Document d'orientation sur les méthodes statistiques applicables aux essais d'écotoxicité*, Rapport SPE 1/RM/46 (incluant les modifications apportées en 2007), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2005b).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de mesure de la survie et de la croissance de collemboles exposés à des contaminants dans le sol*, Rapport SPE 1/RM/47, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2007a).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de reproduction et de survie du cladocère* Ceriodaphnia dubia, Rapport SPE 1/RM/21 (2e éd.), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2007b).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole* Lemna minor, Rapport SPE 1/RM/37 (2e éd.), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2007c).

———, *Development and Standardization of New Toxicity Test Methodologies and Guidance for Assessment and Remediation of Impacts from Hydrocarbon and Brine Contamination on Boreal Forest, Taiga and Northern Soil using Organisms Representative of the Eco-zone Regions, Five Year Technical Progress Report*, Section de l'évaluation biologique et normalisation, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2010).

———, *Méthode d'essai biologique : essai de croissance et de survie sur des larves de tête-de-boule*, Rapport SPE 1/RM/22 (2e éd.), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2011a).

———, *Méthode d'essai biologique : essai sur la fécondation chez les échinides (oursins verts et oursins plats)*, Rapport SPE 1/RM/27 (2e éd.), Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2011b).

———, *Guide d'échantillonnage et de préparation de sol contaminé aux fins d'essais biologiques*, Rapport SPE 1/RM/53, Service de la protection de l'environnement, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2012).

———, *Inter-laboratory Validation of Environment Canada's New Test Method for Measuring Soil Toxicity Using Plants Native to the Canadian Boreal Region*, Section de l'évaluation biologique et normalisation, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2013a).

———, *Development and Standardization of Toxicity Test Methodologies for Assessment of Impacts from Contamination using Species and Microbial Communities Representative of Canadian Boreal and Taiga Regions*, Rapport technique 2010-2013, Section de l'évaluation biologique et normalisation, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2013b).

EC et SRC (Environnement Canada et Saskatchewan Research Council), *Validation of Toxicology Test Methods for Assessing Petroleum Hydrocarbon and Brine Spills in Boreal Forest Soils*, préparé pour l'Environmental Research Advisory Council, Association canadienne des producteurs de pétrole, par la Division des méthodes biologiques, Environnement Canada, et l'Environment and Forestry Division, Saskatchewan Research Council (2007).

EcoDynamics Consulting Ltd., *Sampling in the Swan Hills and Peace River Areas of Alberta and the Torch River Area of Saskatchewan*, préparé pour Environnement Canada, Ottawa (ON) (2007).

———, *Sampling of a Reference Soil in the Bathurst Region of New Brunswick - Ecological Site Characterization*, préparé pour Environnement Canada, Ottawa (ON) (2008a).

———, *Site SK09 Robins Lake, Saskatchewan – Soil Sampling and Ecological Description*, préparé pour Environnement Canada, Ottawa (ON) (2008b).

———, *Ecological Description of the Ontario Reference Site*, préparé pour Environnement Canada, Ottawa (ON) (2011).

Eisenhart, C., M.W. Hastay et W.A. Wallace, *Techniques of Statistical Analysis*, ch. 15, McGraw-Hill Book Co., New York (NY) (1947).

Emery, S.M., et K.L. Gross, « Dominant Species Identity, not Community Evenness, Regulates Invasion in Experimental Grassland Plant Communities », *Ecology*, 88:954-964 (2007).

ESG (ESG International Inc.), *Impacts of Metal-Contaminated Forest Soils from the Canadian Shield on Terrestrial Organisms*, rapport préparé par ESG International Inc., Guelph (ON), pour le Metals in the Environment Research Network, Canadian Network of Toxicology Centres, Guelph (ON), et pour la Section de l'élaboration et de l'application des méthodes, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2002).

Feisthauer, N.A., G.L. Stephenson, J.I. Princz et R.P. Scroggins, « Effects of Metal-Contaminated Forest Soils from the Canadian Shield to Terrestrial Organisms », *Environ. Toxicol. Chem.*, 25(3):823-835 (2006).

Fletcher, J.S., F.L. Johnson et J.C. McFarlane, « Database Assessment of Phytotoxicity Data Published on Terrestrial Vascular Plants », *Environ. Toxicol. Chem.*, 7:615-622 (1988).

Fletcher, J.S., M.J. Muhitch, D.R. Vann, J.C. McFarlane et F.E. Benenati, « PHYTOTOX Database Evaluation of Surrogate Plant Species Recommended by the U.S. Environmental Protection Agency and the Organization for Economic Cooperation and Development », *Environ. Toxicol. Chem.*, 4:523-532 (1985).

Fletcher, J.S., T.G. Pfleeger et H.C. Ratsch, « Chlorsulfuron Influence on Garden Pea Reproduction », *Physiol. Plant*, 94:261-267 (1995).

Fletcher, J.S., T.G. Pfleeger, H.C. Ratsch et R. Hayes, « Potential Impact of Low levels of Chlorsulfuron and Other Herbicides on Growth and Yield of Non-Target Plants », *Environ. Toxicol. Chem.*, 15(7):1189-1196 (1996).

Flora of North America, Vol. 3. *Betulaceae*, en ligne : www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=10101 (date d'accès : 7 janvier 2013) (2009a).

———, Vol. 2. *Pinaceae*, en ligne : www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=200005326 (date d'accès : 7 janvier 2013) (2009b).

Franklin, J.A., S. Renault, C. Croser, J.J. Zwiazek et M. MacKinnon, « Jack Pine Growth and Elemental Composition are Affected by Saline Tailings Water », *Journal of Environmental Quality*, 31:648-653 (2002).

Frankton, C., et G.A. Mulligan, *Weeds of Canada*, Agriculture Canada, Ottawa (ON) (1970).

Godbold, D.L., et A. Hüttermann, « Effect of Zinc, Cadmium and Mercury on Root Elongation of *Picea abies* (Karst.) Seedlings and the Significance of These Metals to Forest Die-Back », *Environ. Pollut. Ser.*, A(38):375-381 (1985).

Harrington, J.T., « Propagation Protocol for Production of Container *Populus tremuloides* (Michx.) Plants (164-ml Containers) », Université d'État du Nouveau-Mexique-Mora Research Center, Mora (NM), dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2010).

Hausenbuiller, R.L., *Soil Science — Principles & Practices*, 3e éd., W.C. Brown Publisher, Dubuque (IA) (1985).

Hendershot, W.H., H. Lalonde et M. Duquette, « Soil Reaction and Exchangeable Acidity », dans : *Soil Sampling and Methods of Analysis*, M.R. Carter (dir.), Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, Boca Raton (FL) (1993).

Hettinger, L.R., *Vegetation Response to Brine Spill Reclamation Measures: Boreal Forest, Alberta, Canada [Crude Oil Production]*, Information Systems Division, National Agricultural Library (United States of America), NAL/USDA, Beltsville (MD) (1982).

Hoenig, J.M., et D.M. Heisey, « The Abuse of Power: The Pervasive Fallacy of Power Calculations for Data Analysis », *Amer. Statistician*, 55:19-24 (2001).

Hosie, R.C., *Arbres indigènes du Canada*, Administration centrale, Service canadien des forêts, Pêches et Environnement Canada, Ottawa (ON), Éditions Fides, St-Laurent (QC) (1978).

Howard, J.L., « *Populus tremuloides* », dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne : www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 25 novembre 2010) (1996).

Howat, D.R., *Acceptable Salinity, Sodicity and pH Values for Boreal Forest Reclamation*, Rapport ESD/LM/00-2, Division des sciences environnementales, ministère de l'Environnement de l'Alberta, Edmonton (AB) (2000).

ISO (Organisation internationale de normalisation), *Soil Quality -- Determination of the Effect of Chemical Substances on the Reproduction of Earthworms*, proposition des Pays-Bas, Genève, Suisse (1991).

———, *11268-1, Qualité du sol -- Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eisenia fetida*) -- Partie 1 : Détermination de la toxicité aiguë en utilisant des substrats de sol artificiel*, Genève, Suisse (1993).

———, *11268-2, Qualité du sol -- Effets des polluants vis-à-vis des vers de terre (*Eisenia fetida*) -- Partie 2 : Détermination des effets sur la reproduction*, Genève, Suisse (1998).

———, *11267-2, Qualité du sol -- Inhibition de la reproduction de* Collembola *(*Folsomia candida*) par des polluants du sol*, Genève, Suisse (1999).

———, *11074, Qualité du sol -- Vocabulaire*, Genève, Suisse (2005).

———, *11269-1:2012, Qualité du sol -- Détermination des effets des polluants sur la flore du sol -- Partie 1 : Méthode de mesurage de l'inhibition de la croissance des racines*, Genève, Suisse (2012a).

———, *11269-2:2012, Qualité du sol -- Détermination des effets des polluants sur la flore du sol -- Partie 2 : Effets des sols contaminés sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs*, Genève, Suisse (2012b).

Kabzems, A., *Growth and Yield of Well Stocked White Spruce in the Mixedwood Section*, bulletin technique n° 5, Direction des forêts, ministère des Ressources naturelles de la Saskatchewan, Regina (SK) (1971).

Kabzems, A., et C.L. Kirby, *The Growth and Yield of Jack Pine in Saskatchewan*, bulletin technique n° 2, Direction des forêts, ministère des Ressources naturelles de la Saskatchewan, Regina (SK) (1956).

Kalsch, W., et J. Römbke, « Zur chronischen Wirkung von TNT auf die Stoppelrübe *Brassica rapa* im Labortest », dans : *Ökotoxikologie - Ökosystemare Ansätze und Methoden*, J. Oehlmann et B. Barkert (dir.), Verlag Urban & Fischer, Stuttgart, Jena (1999).

Kaputska, L.A., « Selection of Phytotoxicity Tests for Use in Ecological Risk Assessments », dans : *Plants for Environmental Studies*, W. Wang, J.W. Gorsuch et J.S. Hughes (dir.), CRC Press, New York (NY) (1997).

Kaputska, L.A., J. Lipton, H. Galbraith, D. Cacela et K. LeJeune, « Metal and Arsenic Impacts to Soils, Vegetation Communities and Wildlife Habitat in Southwest Montana Uplands Contaminated by Smelter Emissions: II. Laboratory Phytotoxicity Studies », *Environ. Toxicol. Chem.*, 14(11):1905-1912 (1995).

Kenaga, E.E., « Comparative Toxicity of 131,596 Chemicals to Plant Species », *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 5:469-475 (1981).

Khasa, D.P., M. Fung et B. Logan, « Early Growth Response of Container-grown Selected Woody Boreal Seedlings in Amended Composite Tailings and Tailings Sand », *Bioresource Technology*, 96:857-864 (2004).

Khasa, P.D., B. Hambling, G. Kernaghan, M. Fung et E. Ngimbi, « Genetic Variability in Salt Tolerance of Selected Boreal Woody Seedlings », *Forest Ecol. Manage.*, 165:257-269 (2002).

Kjaer, C., et N. Elmegaard, « Effects of Copper Sulfate on Black Bindweed », *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 33:110-119 (1996).

Kjaer, C., M.B. Pedersen et N. Elmegaard, « Effects of Soil Copper on Black Bindweed (*Fallopia convolvulus*) in the Laboratory and in the Field », *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35:14-19 (1998).

Lawrence, D., C.T. Lane, M.G. Willoughby, C. Hincz, D. Moisey et C. Stone, « Range Plant Community Types and Carrying Capacity for the Lower Foothills Subregion of Alberta: Fourth Approximation », pub. n° T/083, ISBN 0-7785-4098-7 (version en ligne), Terres domaniales et forêts, Mise en valeur des ressources renouvelables de l'Alberta, Edmonton (AB) (2005).

Lenth, R.V., « Statistical Power Calculations », *J. Anim. Sci.*, 85(E. Suppl.):E24-E29 (2007).

Lock, K., et C.R. Janssen, « Influence of Aging on Copper Bioavailability in Soils », *Environ. Toxicol. Chem.*, 22(5):1162-1166 (2003).

Luna, T., J. Evans, J. Hosokawa et D. Wick, « Propagation Protocol for Production of Container *Populus tremuloides* Michx. Plants (3-L Containers) », USDI NPS - Glacier National Park, West Glacier, Montana, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2001).

Marquis, D.A., « Silvical Requirements for Natural Birch Regeneration », dans : *The Birch Symposium: Proceedings, 1969 August 19-21, Durham, NH*, Res. Pap. NE-146, Northeastern Forest Experiment Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Upper Darby (PA) (1969).

MEA (Ministère de l'Environnement de l'Alberta), *Alberta Tier 1 Soil and Groundwater Remediation Guidelines*, ISBN 978-0-7785-6306-8 (version en ligne) (2007a).

———, *Alberta Tier 2 Soil and Groundwater Remediation Guidelines*, ISBN 978-0-7785-6308-2 (version en ligne) (2007b).

———, *Tier 2 Ecocontact Guideline Derivation Protocol*, version provisoire, ISBN 978-0-7785-6753-0 (version en ligne) (2007c).

Mearns, A.J., R.C. Swartz, J.M. Cummins, P.A. Dinnel, P. Plesha et P.M. Chapman, « Interlaboratory Comparison of a Sediment Toxicity Test Using the Marine Amphipod, *Rhepoxynius abronius* », *Marine Environ. Res.*, 19:13-37 (1986).

MEEO (Ministère de l'Environnement et de l'Énergie de l'Ontario), *Guidance on Sampling and Analytical Methods for Use at Contaminated Sites in Ontario — Section 8.3.7 Inorganics*, version 1.1, ISBN-0-7778-4056-1, Imprimeur de la Reine pour l'Ontario, Toronto (ON) (1996).

Meier, J.R., L.W. Chang, S. Jacobs, J. Torsella, M.C. Meckes et M.K. Smith, « Use of Plant and Earthworm Bioassays to Evaluate Remediation of Soil from a Site Contaminated with Polychlorinated Biphenyls », *Environ. Toxicol. Chem.*, 16(5):928-938 (1997).

Menzie, C.A., D.E. Burmaster, J.S. Freshman et C.A. Callahan, « Assessment of Methods for Estimating Ecological Risk in the Terrestrial Component: A Case Study at the Baird & McGuire Superfund Site in Holbrook, Massachusetts », *Environ. Toxicol. Chem.*, 11:245-260 (1992).

Menzie, C.A., B. Southworth, G. Stephenson et N. Feisthauer, « The Importance of Understanding the Chemical Form of a Metal in the Environment: The Case of Barium Sulfate (Barite) », *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 14(5):974-991 (2008).

Miller, W.E., S.A. Peterson, J.C. Greene et C.A. Callahan, « Comparative Toxicology of Laboratory Organisms for Assessing Hazardous Waste Sites, » *J. Environ. Qual.*, 14:569-574 (1985).

Moench, R., « Propagation Protocol for Production of Container *Populus tremuloides* (Michx.) Plants (1 + 0 Container) », Colorado State Forest Service Nursery, Fort Collins, Colorado, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 3 décembre 2010) (2001).

Moss, E.H., et J.G. Packer, *Flora of Alberta*, 2e éd., Presses de l'Université de Toronto, Toronto (ON) (1994).

NERI (National Environmental Research Institute), « Manual of SECOFASE – Development, Improvement and Standardization of Test Systems for Assessing Sublethal Effects of Chemicals on Fauna in the Soil Ecosystem », H. Lokke et C.A.M. van Gestel (dir.), *Report from a Workshop held in Silkeborg January 18-19, 1993*, Silkeborg, Danemark (1993).

Newman, M.C., *Quantitative Methods in Aquatic Ecotoxicology*, Lewis Pub., Boca Raton (FL) (1995).

———, « What Exactly are you Inferring? A Closer Look at Hypothesis Testing », *Environ. Toxicol. Chem.*, 27:1013-1126 (2008).

Nienstaedt, H., et J.C. Zasada, « White Spruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) », dans : *Silvics of North America – Volume 1: Conifers; Volume 2: Hardwoods*, Burns, R.M., et B.H. Honkala (coordonnateurs techniques), Agriculture Handbook 654, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1990).

Noller, G.L., « Propagation Protocol for Production of *Calamagrostis canadensis* (Michx.) Beauv. Plants », Upper Colorado Environmental Plant Center, Meeker, Colorado, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2001).

Norberg-King, T.J., *A Linear Interpolation Method for Sublethal Toxicity: The Inhibition Concentration (ICp) Approach (Version 2.0)*, Report 03-93 of the National Effluent Toxicity Assessment Center, Environ. Res. Lab.-Duluth, USEPA, Duluth (MN) (1993).

OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), *Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Ver de terre, essai de toxicité aiguë*, n° 207, Paris, France (1984).

———, *Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Essai de reproduction des vers de terre (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*)*, n° 222, Paris, France (2004).

———, *Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Plantes terrestres, essai de croissance*, n° 208, Paris, France (2006a).

———, *Current Approaches in the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application*, Série de publications sur le testing et l'évaluation n° 54, Paris, France (2006b).

Perala, D.A., « *Populus tremuloides* Michx.: Quaking Aspen », dans : *Silvics of North America – Volume 1: Conifers; Volume 2: Hardwoods*, Burns, R.M., et B.H. Honkala (coordonnateurs techniques), Agriculture Handbook 654, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1990).

Pfleeger, T., C. McFarlane, R. Sherman et G. Volk, « A Short-Term Bioassay for Whole Plant Toxicity », dans : *Plants for Toxicity Assessment: Second Volume*, Gorsuch, J.W., W.R. Lower, W. Wang et M.S. Lewis (dir.), ASTM STP 1115, American Society for Testing and Materials, Philadelphie (PA) (1991).

Powell, G.W., et E.W. Bork, « Competition and Facilitation in Mixtures of Aspen Seedlings, Alfalfa, and Marsh Reedgrass », *Can. J. For. Res.*, 34:1858-1869 (2004).

Princz, J.I., M. Moody, C. Fraser, L. Van der Vliet, H. Lemieux, R. Scroggins et S.D. Siciliano, « Evaluation of a New Battery of Toxicity Tests for Boreal Forest Soils: Assessment of the Impact of Hydrocarbons and Salts », *Environ. Toxicol. Chem.*, 31(4):766-777 (2012).

Qualtiere, E.J., *Variation in Germination Response to Temperature Among Collections of Three Conifers from the mixed-wood forest*, thèse de maîtrise, Université de la Saskatchewan, Saskatoon (SK) (2008).

Rader, B.R., D.W.R. Nimmo et P.L. Chapman, « Phytotoxicity of Floodplain Soils Contaminated with Trace Metals Along the Clark Fork River, Grant-Kohrs Ranch National Historic Site, Deer Lodge, Montana, USA », *Environ. Toxicol. Chem.*, 16(7):1422-1432 (1997).

Redente, E.F., H. Zadeh et M.W. Paschke, « Phytotoxicity of Smelter-Impacted Soils in Southwestern Montana, USA », *Environ. Toxicol. Chem.*, 21(2):269-274 (2002).

Redfield, E.B., « Tolerance Mechanisms of Black Spruce *(Picea mariana)* Seedlings Exposed to Saline Oil Sands Tailings », thèse de maîtrise, Département des ressources renouvelables, Université de l'Alberta, Edmonton (AB) (2001).

Renault, S, J.J. Zwiazek, M. Fung et S. Tuttle, « Germination, Growth and Gas Exchange of Selected Boreal Forest Seedlings in Soil Containing Oil Sands Tailings », *Environmental Pollution*, 107:357-365 (2000).

RNCan (Ressources naturelles Canada), *Glossaire*, Service canadien des forêts, en ligne: http://scf.rncan.gc.ca/terms/explorer/C?lang=fr_CA (sans date).

Rocchini, R.J., M.J.R. Clark, A.J. Jordan, S. Horvath, D.J. McLeay, J.A. Servizi, A. Sholund, H.J. Singleton, R.G. Watts et R.H. Young, *Provincial Guidelines and Laboratory Procedures for Measuring Acute Lethal Toxicity of Liquid Effluents to Fish*, Ministère de l'Environnement de la Colombie-Britannique, Victoria (BC) (1982).

Rook, J.S., *Calamagrostis canadensis*: Bluejoint reedgrass, en ligne : www.rook.org/earl/bwca/nature/grass/calamagrostis.html (date d'accès : 7 janvier 2013) (1998).

———, *Picea mariana*: Black Spruce, en ligne : www.rook.org/earl/bwca/nature/trees/piceamar.html (date d'accès : 7 janvier 2013) (2002).

Rudolph, T.D., et P.R. Laidly, « *Pinus banksiana* Lamb.: Jack Pine », dans : *Silvics of North America – Volume 1: Conifers; Volume 2: Hardwoods*, Burns, R.M. et B.H. Honkala (coordonnateurs techniques), Agriculture Handbook 654, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1990).

Sager, J.C., et C. McFarlane, « Radiation », dans : *Plant Growth Chamber Handbook*, Langhans, R.W., et T.W. Tibbits (dir.), North Central Regional Research Publication No. 340, Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Special Report No. 99, Université d'État de l'Iowa, Science et Technologie, Ames (IA) (1997).

Saterbak, A., R.J. Toy, B.J. McMain, M.P. Williams et P.B. Dorn, « Ecotoxicological and Analytical Assessment of Effects of Bioremediation on Hydrocarbon-Containing Soils », *Environ. Toxicol. Chem.*, 19:2643-2652 (2000).

Saterbak, A., R.J. Toy, D.C.L. Wong, B.J. McMain, M.P. Williams, P.B. Dorn, L.P. Brzuzy, E.Y. Chai et J.P. Salanitro, « Ecotoxicological and Analytical Assessment of Hydrocarbon-contaminated Soils and Application to Ecological Risk Assessment », *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(7):1591-1607 (1999).

Scoggan, H.J., *La flore du Canada*, Publications de botanique n° 7, Musée canadien de la nature, Ottawa (ON) (1978).

Sheppard, S.C., *Development of Bioassay Protocols for Toxicants in Soil*, rapport PIBS 2838, ISBN 0-7778-1440-X, Recherche environnementale, Direction de la recherche et de la technologie, Ministère de l'Environnement de l'Ontario, Imprimeur de la Reine pour l'Ontario, Toronto (ON) (1994).

Sheppard, S.C., et W.G. Evenden, « An Approach to Defining a Control or Diluent Soil for Ecotoxicity Assays », dans : *Environmental Toxicology and Risk Assessment*, vol. 7, ASTM STP 1333, Little, E.E., A.J. DeLonay et B.M. Greenberg (dir.), American Society for Testing and Materials, Philadelphie (PA) (1998).

Sheppard, S.C., et G.L. Stephenson, « Ecotoxicity of Aged Uranium in Soil Using Plant, Earthworm and Microarthropod Toxicity Tests », *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 88:43-47 (2012).

Siciliano, S.D., J.J. Germida et J.V. Headley, « Evaluation of Prairie Grass Species as Bioindicators of Halogenated Aromatics in Soil », *Environ. Toxicol. Chem.*, 16 (3):521-527 (1997).

Simpson, D., et B. Daigle, « Improving the Quality of White Birch (*Betula papyrifera*) Seed », Can. Tree Imp. Assoc., *Tree Seed Work. Grp. Newsbull.*, 54:15-16 (2011).

Sokal, R.R., et F.J. Rohlf, *Biometry*, W.H. Freeman and Co., San Francisco (CA) (1969).

SPAC (Soil and Plant Analysis Council Inc.), *Soil Analysis – Handbook of Reference Methods*, Université de la Géorgie, Athens (GA) (1992).

SRC (Saskatchewan Research Council), *Boreal Forest Plant Species for Testing of Contaminated Soil*, SRC Publication No. 11627-2E03 (2003).

———, *Development of Terrestrial Plant Test Methods Using Boreal Forest Species*, SRC Publication No. 11627-1C04 (2004).

———, *Further Development of Boreal Forest Plant Toxicity Test*, SRC Publication No. 11627-1E06 (2006).

———, *Investigations to Refine Toxicity Test Methods Using Boreal Forest Plants: Soil pH Tolerance, Seed Source Variability, Test Design Differences and Testing of Soils with Brine and PHC Contamination*, SRC Publication No. 11627-3E07 (2007).

———, *Investigations to Refine Toxicity Test Using Boreal Forest Plants: Testing of Brine and PHC Contaminated Soil, an Ontario Podzol Soil and Two Wetland Plants*, SRC Publication No. 11627-2E08 (2008).

———, *Research in Support of a Standardized Toxicity Test Method using BOREAL Forest Plants and Testing of a Podzol from New Brunswick*, SRC Publication No. 11627-1C09 (2009).

———, *Investigation of Paper Birch Germination*, SRC Publication No. 11627-5E12 (2012).

Steel, R.G.D., et J.H. Torrie, *Principles and Procedures of Statistics*, McGraw-Hill Book Co., New York (NY) (1980).

Stephenson, G.L., *Terrestrial Test Methods for Plants and Soil Invertebrates*, thèse de doctorat, Département de biologie environnementale, Université de Guelph, Guelph (ON) (2003a).

———, Données inédites, Stantec Consulting, Ltd., Guelph (ON) (2003b).

Stephenson, G., N. Feisthauer, K. Bessie et R. Scroggins, *Terrestrial Toxicity Testing in Support of Site-specific Risk Assessments: An Integrative Tool for Contaminated Site Management*, compte rendu de l'Atelier national sur les sites contaminés fédéraux, Vancouver (BC), 28 avril-2 mai 2008, organisé par l'Institut des biens immobiliers du Canada Inc., en ligne : www.rpic-ibic.ca (date d'accès : 7 janvier 2013) (2008).

Stephenson, G.L., N. Koper, G.F. Atkinson, K.R. Solomon et R.P. Scroggins, « Use of Nonlinear Regression Techniques for Describing Concentration-Response Relationships of Plant Species Exposed to Contaminated Site Soils », *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 2968-2981 (2000).

Stephenson, G.L., R.G. Kuperman, G.L. Linder et S. Visser, « Toxicity Tests for Assessing Contaminated Soils and Ground Water », dans : *Environmental Analysis of Contaminated Sites*, Sunahara, G.I., A.Y. Renoux, C. Thellen, C.L. Gaudet et A. Pilon (dir.), Ecological and Environmental Toxicology Series, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, Royaume-Uni (2002).

Stephenson, G.L., J.I. Princz, N. Koper et P.G. Miasek, « Toxicity Testing with Volatile Substances », dans : *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Science, Policy, and Standardization - Implications for Environmental Decisions*, vol. 10, ASTM STP 1403, Greenberg, B.M., R.N. Hall, M.R. Roberts, Jr., et R.W. Gensemer (dir.), American Society for Testing and Materials, West Conshohocken (PA) (2001).

Stephenson, G.L., K.R. Solomon, B. Hale, B.M. Greenberg et R.P. Scroggins, « Development of Suitable Test Methods for Evaluating the Toxicity of Contaminated Soils to a Battery of Plant Species Relevant to Soil Environments in Canada », dans : *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Modeling and Risk Assessment*, vol. 6, ASTM STP 1317, Dwyer, J., T.R. Doane et M.L. Hinman (dir.), American Society for Testing and Materials, Philadelphie (PA) (1997).

Sun, B., J. Tan, Z. Wan., F. Gu et M. Zhu, « Allelopathic Effects of Extracts from *Solidago canadensis* L. Against Seed Germination and Seedling Growth of Some Plants », *J. Env. Sc.*, 18(2):304-309 (2006).

Tesky, J.L., « *Calamagrostis canadensis* », dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (1992).

Thorpe, J., et B.C. Godwin, *Succession and Old-Growth Forests in Prince Albert National Park*, SRC Publication No. E-2500-3-E-92, Saskatoon (SK) (1992).

———, *Saskatchewan Rangeland Ecosystems: Ecosite and Communities of Forested Rangelands*, SRC Publication No. 11969-1E08, Saskatoon (SK) (2008).

Thursby, G.B., J. Heltshe, K.J., et K.J. Scott, « Revised Approach to Toxicity Test Acceptability Criteria Using a Statistical Performance Assessment », *Environ. Toxicol. Chem.*, 16:1322-1329 (1997).

Tilley, D.J., « Propagation Protocol for Production of Container *Calamagrostis canadensis* (Michx.) P. Beauv. Plants (10 Cubic Inch Container) », USDA NRCS - Aberdeen Plant Materials Center, Aberdeen, Idaho, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2010).

TOXSTAT, Version 3.5, Lincoln Research Associates, Inc., PO Box 4276, Bisbee, Arizona (AZ) 85603, 520-432-4092, courriel : danlra@msn.com (disquette et guide de l'utilisateur) (1996).

Uchytil, R.J., « *Betula papyrifera* », dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne : www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (1991a).

———, « *Picea mariana* », dans : *Fire Effects Information System*, Fire Sciences Laboratory, Rocky Mountain Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, en ligne : www.fs.fed.us/database/feis/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (1991b).

USDA-NRCS (United States Department of Agriculture – Natural Resources Conservation Services), *The PLANTS Database, Plants Profile:* Solidago canadensis, National Plant Data Center, Baton Rouge (LA), en ligne : http://plants.usda.gov (date d'accès : 7 janvier 2013) (2010).

USDI (United States Department of the Interior), *Digital Representations of Tree Species Range Maps from « Atlas of United States Trees » by Elbert L. Little, Jr. (and other publications)*, http://esp.cr.usgs.gov/data/atlas/little/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (2006).

USEPA (United States Environmental Protection Agency), *Protocols for Short-Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites*, EPA/600/3-88/029, préparé par Greene, J.C., C.L. Bartels, W.J. Warren-Hicks, B.R. Parkhurst, G.L. Linder, S.A. Peterson et W.E. Miller, Corvallis Environ. Research Lab., USEPA, Corvallis (OR) (1989).

———, *Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms*, EPA/600/R-95/136, Office of Research and Development, USEPA, Washington, DC (1995).

———, *Methods for Measuring the Toxicity and Bioaccumulation of Sediment-associated Contaminants with Freshwater Invertebrates*, EPA 600/R-99/064, 2e éd., Office of Research and Development, Mid-Continent Ecology Division, USEPA, Duluth (MN) et Office of Science and Technology, Office of Water, USEPA, Washington, DC (2000).

———, *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms*, EPA 821-R-02-013, 4e éd., Office of Water, USEPA, Washington, DC (2002).

———, *Guidance for the Use of Dilution-Water (negative) and Solvent Controls in Statistical Data Analysis for Guideline Aquatic Toxicology Studies*, Memo from Statistics Workgroup and Aquatic Biology Technical Team to Donald Brady, Director, Environmental Fate and Effects Division, Office of Pesticides Programs, Office of Chemical Safety and Pollution Prevention, USEPA, Washington, DC (2008).

———, *National Pollutant Discharge Elimination System Test of Significant Toxicity Implementation Document* », EPA 833-R-10-003, Office of Wastewater Management, USEPA, Washington, DC (2010).

USGS (United States Geological Survey), *Native Wildflowers of the North Dakota Grasslands: Canada Goldenrod (*Solidago canadensis*)*, Northern Prairie Wildlife Research Centre, en ligne : www.npwrc.usgs.gov/resource/plants/wildflwr/species/solicana.htm (date d'accès : novembre 2010) (2006).

Université du Michigan, *Native American Ethnobotany, A Database of Foods, Drugs, Dyes and Fibers of Native American Peoples, Derived from Plants*, en ligne : http://herb.umd.umich.edu/ (date d'accès : 7 janvier 2013) (2003).

Université Lakehead, « *Pinus banksiana*: Jack Pine », *Borealforest.org*, en ligne : http://bolt.lakeheadu.ca/~borfor/trees/tree8.htm (date d'accès : 7 janvier 2013) (2009).

van Dam, R.A., A.J. Harford et M.S. Warne, « Time to Get Off the Fence: The Need for Definitive International Guidance on Statistical Analysis of Ecotoxicity Data, Debate and Commentary », *Integr. Environ. Assess. Manag.*, 8(2):242-245 (2012).

van der Grinten, M., « Propagation Protocol for Production of Container *Solidago canadensis* L. Plants », USDA NRCS - Big Flats Plant Materials Center, Corning, New York, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2002).

van der Hoeven, N., « Power Analysis for the NOEC: What is the Probability of Detecting Small Toxic Effects on Three Different Species using the Appropriate Standardized Test Protocols? », *Ecotoxicology*, 7:355-361 (1998).

Van der Vliet, L., L.N. Taylor et R. Scroggins, « NOEC: Notable Oversight of Enlightened Canadians: A Response to van Dam et al. (2012), Letter to the Editor », *Integr. Environ. Assess. Manag.*, 8(3):397-398 (2012).

Velicogna, J., E. Ritchie, J. Princz, M. Lessard et R. Scroggins, « Ecotoxicity of Siloxane D5 in Soil », *Chemosphere*, 87:77-83 (2012).

Viereck, L.A., et W.F. Johnston, « *Picea mariana* (Mill.) B.S.P.: Black spruce », dans : *Silvics of North America – Volume 1: Conifers; Volume 2: Hardwoods*, Burns, R.M., et B.H. Honkala (coordonnateurs techniques), Agriculture Handbook 654, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1990).

Viereck, L.A., et E.L. Little, Jr., *Alaska Trees and Shrubs*, Agriculture Handbook 410, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC (1972).

Wang, W., « Literature Review on Higher Plants for Toxicity Testing », *Water, Air and Soil Pollution*, 59:381-400 (1991).

———, « Use of Plants for the Assessment of Environmental Contaminants », *Rev. of Environ. Contam. Toxicol.*, 126:87-127 (1992).

Wang, W., et K. Freemark, « The Use of Plants for Environmental Monitoring and Assessment », *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 30:289-301 (1995).

Watson, L.E., R.W. Parker et D.F. Polster, *Manual of Plant Species Suitability for Reclamation in Alberta Volume II – Forbs, Shrubs and Trees*, RRTAC 80-5, Alberta Land Conservation and Reclamation Council, Gouvernement de l'Alberta (1980).

White, A.L., C. Boutin, R.L. Dalton, B. Henkelman et D. Carpenter, « Germination Requirements for 29 Terrestrial and Wetland Wild Plant Species Appropriate for Phytotoxicity Testing », *Pest Manag. Sci.*, 65:19-26 (2009).

Wick, D., T. Luna, J. Evans et J. Hosokawa, « Propagation Protocol for Production of Container *Solidago canadensis* L. *salabrosa* (Piper) Jones Plants (160-mL Containers) », USDI NPS - Glacier National Park, West Glacier, Montana, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2008).

Williams, D.A., « The Comparison of Several Dose Levels with a Zero Dose Control », *Biometrics*, 28:519-532 (1972).

Winder, R.S., « Evaluation of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium* spp. as Potential Biological Control Agents for Marsh Reed Grass (*Calamagrostis canadensis*) », *Can. J. Plant Pathol.*, 21:8-15 (1999).

Wong, D.C.L., E.Y. Chai, K.K. Chu et P.B. Dorn, « Prediction of Ecotoxicity of Hydrocarbon-Contaminated Soils Using Physicochemical Parameters », *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(11):2611-2621 (1999).

Wren, C.D., M.K. Gilbertson, G. Spiers, P. Beckett, D. Stanbury et M. Kershaw, « ERA Objective #1; Are the Chemicals of Concern Preventing the Recovery of Terrestrial Plant Communities? », dans : *Risk Assessment and Environmental Management – A case study in Sudbury, Ontario, Canada*, Wren, C.D. (dir.), Maralte Publishing, Pays-Bas (2012).

Wynia, R.L., « Propagation Protocol for Production of *Solidago canadensis* Seeds », USDA NRCS - Manhattan Plant Materials Center, Manhattan, Kansas, dans : *Native Plant Network*, Forest Research Nursery, College of Natural Resources, Université de l'Idaho, Moscow (ID), en ligne : www.nativeplantnetwork.org (date d'accès : 7 janvier 2013) (2002).

———, *Plant Guide: Bluejoint Reedgrass:* Calamagrostis canadensis *(Michx.) Beaux*, USDA-NRCS Plant Materials Center, Manhattan (KS), en ligne : http://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_caca4.pdf (date d'accès : 7 janvier 2013) (2006).

Zajdlik (Zajdlik and Associates Inc.), *Statistical Guidance for Ecotoxicological Data Derived Using Environment Canada Standardized Biological Test Methods*, rapport inédit préparé par Zajdlik and Associates Inc., Rockwood (ON), pour la Section des méthodes biologiques, Environnement Canada, Ottawa (ON) (2010).

Zasada, J.C., K. Van Cleve, R.A. Werner, J.A. McQueen et E. Nyland, « Forest Biology and Management in High Latitude American Forests », dans : *Proceedings of North American Forest Lands at Latitudes North of 60 Degrees: Forest Research and Management at High Latitudes: Proceedings of a Symposium*, Fairbanks (AK), 19-22 septembre 1977, Université de l'Alaska, Fairbanks (AK) (1978).

Méthodes d'essai biologique et documents d'orientation publiés par l'Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes d'Environnement Canada[a]

Titre de la méthode d'essai ou du document d'orientation	Numéro du rapport	Date de publication	Modifications applicables
A. Méthodes d'essai biologique universelles			
Essai de létalité aiguë sur la truite arc-en-ciel	SPE 1/RM/9	Juillet 1990	Mai 1996 et mai 2007
Essai de létalité aiguë sur l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*)	SPE 1/RM/10	Juillet 1990	Mars 2000
Essai de létalité aiguë sur *Daphnia* spp.	SPE 1/RM/11	Juillet 1990	Mai 1996
Essai de reproduction et de survie du cladocère *Ceriodaphnia dubia*	SPE 1/RM/21 2e édition	Février 2007	—
Essai de croissance et de survie sur des larves de tête-de-boule	SPE 1/RM/22 2e édition	Février 2011	—
Essai de toxicité sur la bactérie luminescente *Photobacterium phosphoreum*	SPE 1/RM/24	Novembre 1992	—
Essai d'inhibition de la croissance d'une algue d'eau douce	SPE 1/RM/25 2e édition	Mars 2007	—
Essai de toxicité aiguë de sédiments chez des amphipodes marins ou estuariens	SPE 1/RM/26	Décembre 1992	Octobre 1998
Essai sur la fécondation chez les échinides (oursins verts et oursins plats)	SPE 1/RM/27 2e édition	Février 2011	—
Essai de toxicité sur des salmonidés aux premiers stades de leur cycle biologique (truite arc-en-ciel, saumon coho ou saumon de l'Atlantique)	SPE 1/RM/28 2e édition	Juillet 1998	—

[a] Ces documents sont vendus à l'adresse suivante : Catalogue des Publications, Environnement Canada, Ottawa (ON) K1A 0H3, Canada. Pour en commander des copies papier, prière d'envoyer un courriel à enviroinfo@ec.gc.ca. Il est également possible de les télécharger gratuitement en format PDF à partir de l'adresse suivante : www.ec.gc.ca/faunescience-wildlifescience/default.asp?lang=Fr&n=0BB80E7B-1. Pour obtenir de plus amples renseignements ou pour formuler des commentaires, prière de communiquer avec le chef de la Section de l'évaluation biologique et normalisation, Environnement Canada, Ottawa (ON) K1A 0H3, Canada.

Titre de la méthode d'essai ou du document d'orientation	Numéro du rapport	Date de publication	Modifications applicables
A. Méthodes d'essai biologique universelles (*suite*)			
Essai de survie et de croissance des larves dulcicoles de chironomes (*Chironomus tentans* ou *Chironomus riparius*) dans les sédiments	SPE 1/RM/32	Décembre 1997	—
Essai de survie et de croissance de l'amphipode dulcicole *Hyalella azteca* dans les sédiments	SPE 1/RM/33 2e édition	Janvier 2013	—
Essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole *Lemna minor*	SPE 1/RM/37 2e édition	Janvier 2007	—
Essai de survie et de croissance des vers polychètes spionides (*Polydora cornuta*) dans les sédiments	SPE 1/RM/41	Décembre 2001	—
Essais pour déterminer la toxicité de sols contaminés pour les vers de terre (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida* ou *Lumbricus terrestris*)	SPE 1/RM/43	Juin 2004	Juin 2007
Essai de mesure de la levée et de la croissance de plantes terrestres exposées à des contaminants dans le sol	SPE 1/RM/45	Février 2005	Juin 2007
Essai de mesure de la survie et de la reproduction de collemboles exposés à des contaminants dans le sol	SPE 1/RM/47	Septembre 2007	—
B. Méthodes de référence[b]			
Méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'effluents chez la truite arc-en-ciel	SPE 1/RM/13 2e édition	Décembre 2000	Mai 2007
Méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'effluents chez *Daphnia magna*	SPE 1/RM/14 2e édition	Décembre 2000	—
Méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'un sédiment pour des amphipodes marins ou estuariens	SPE 1/RM/35	Décembre 1998	—
Méthode de référence servant à déterminer la toxicité des sédiments à l'aide d'une bactérie luminescente dans un essai en phase solide	SPE 1/RM/42	Avril 2002	—

[b] Dans le présent contexte, on définit une *méthode de référence* comme étant une méthode d'essai biologique spécifique en vue de la réalisation d'un essai de toxicité, respectant une série de conditions expérimentales et de modes opératoires décrits avec précision dans un document écrit. Contrairement à d'autres méthodes d'essai biologique génériques (polyvalentes ou « universelles ») publiées par Environnement Canada, les *méthodes de référence* sont souvent réservées aux essais associés à des règlements particuliers.

Titre de la méthode d'essai ou du document d'orientation	Numéro du rapport	Date de publication	Modifications applicables
C. Documents d'orientation			
Document d'orientation sur le contrôle de la précision des essais de toxicité au moyen de produits toxiques de référence	SPE 1/RM/12	Août 1990	—
Document d'orientation sur le prélèvement et la préparation de sédiments en vue de leur caractérisation physicochimique et d'essais biologiques	SPE 1/RM/29	Décembre 1994	—
Document d'orientation sur la mesure de la précision des essais de toxicité sur sédiment de contrôle dopé avec un produit toxique de référence	SPE 1/RM/30	Septembre 1995	—
Guide des essais écotoxicologiques employant une seule espèce et de l'interprétation de leurs résultats	SPE 1/RM/34	Décembre 1999	—
Guide des essais de pathogénicité et de toxicité de nouvelles substances microbiennes pour les organismes aquatiques et terrestres	SPE 1/RM/44	Mars 2004	—
Document d'orientation sur les méthodes statistiques applicables aux essais d'écotoxicité	SPE 1/RM/46	Mars 2005	Juin 2007
Procédure de stabilisation du pH pendant un essai de létalité aiguë d'un effluent d'eau usée chez la truite arc-en-ciel	SPE 1/RM/50	Mars 2008	—
Renseignements de base et conseils supplémentaires pour l'étude de la létalité aiguë d'un effluent d'eau usée pour la truite arc-en-ciel	—	Mars 2008	—
Guide d'échantillonnage et de préparation de sol contaminé aux fins d'essais biologiques	SPE 1/RM/53	Février 2012	—

Administration centrale et bureaux régionaux du Service de la protection de l'environnement d'Environnement Canada

Administration centrale
351, boulevard Saint-Joseph
Place Vincent-Massey
Gatineau (Québec)
K1A 0H3

Région de l'Atlantique
45, chemin Alderney
Dartmouth (Nouvelle-Écosse)
B2Y 2N6

Région du Québec
1550, avenue d'Estimauville
Québec (Québec)
G1J 0C3

Région de l'Ontario
4905, rue Dufferin
Downsview (Ontario)
M3H 5T4

Région de l'Ouest et du Nord
Bureau de l'Alberta :
4999, 98e Avenue
Edmonton (Alberta)
T6B 2X3

Bureau du Manitoba :
150-123, rue Main
Winnipeg (Manitoba)
R3C 4W2

Région du Pacifique et du Yukon
Bureau de Vancouver :
401, rue Burrard
Vancouver (Colombie-Britannique)
V6C 3S5

Bureau du Yukon :
91782, route de l'Alaska
Whitehorse (Yukon)
Y1A 5B7

Membres du Groupe intergouvernemental sur les essais écotoxicologiques (en mai 2012)

Gouvernement fédéral, Environnement Canada

Suzanne Agius
Section des programmes de protection marine
Gatineau (Québec)

Fabiola Akaishi
Laboratoire des essais environnementaux
de l'Atlantique
Moncton (Nouveau-Brunswick)

Adrienne Bartlett
Institut national de recherche sur les eaux
Burlington (Ontario)

Lorraine Brown
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Joy Bruno
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Craig Buday
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Ken Doe (membre émérite)
Laboratoire des essais environnementaux
de l'Atlantique
Moncton (Nouveau-Brunswick)

Garth Elliott
Laboratoire des essais environnementaux
des Prairies et du Nord
Edmonton (Alberta)

Chris Fraser
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

François Gagné
Recherche sur les écosystèmes fluviaux
Montréal (Québec)

Patricia Gillis
Division de la recherche sur la protection
des écosystèmes aquatiques
Burlington (Ontario)

Manon Harwood
Laboratoire des essais environnementaux du Québec
Montréal (Québec)

Ryan Hennessy
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Dale Hughes
Laboratoire des essais environnementaux
de l'Atlantique
Moncton (Nouveau-Brunswick)

Paula Jackman
Laboratoire des essais environnementaux
de l'Atlantique
Moncton (Nouveau-Brunswick)

Nancy Kruper
Laboratoire des essais environnementaux
des Prairies et du Nord
Edmonton (Alberta)

Heather Lemieux
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Michelle Linssen-Sauvé
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Danielle Milani
Division de la recherche sur les conséquences
pour les écosystèmes aquatiques
Burlington (Ontario)

Warren Norwood
Division de la recherche sur la protection
des écosystèmes aquatiques
Burlington (Ontario)

Heather Osachoff
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Joanne Parrott
Division de la recherche sur la protection
des écosystèmes aquatiques
Burlington (Ontario)

Linda Porebski
Section des programmes de protection marine
Gatineau (Québec)

Juliska Princz
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Jessica Rahn
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Ellyn Ritchie
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Grant Schroeder
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Richard Scroggins
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Rachel Skirrow
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Troy Steeves
Laboratoire des essais environnementaux
de l'Atlantique
Moncton (Nouveau-Brunswick)

David Taillefer
Section des programmes de protection
du milieu marin
Gatineau (Québec)

Lisa Taylor (présidente)
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Sylvain Trottier
Laboratoire des essais environnementaux du Québec
Montréal (Québec)

Graham van Aggelen
Laboratoire des essais environnementaux
du Pacifique et du Yukon
North Vancouver (Colombie-Britannique)

Leana Van der Vliet
Laboratoires de science et technologie
Ottawa (Ontario)

Brian Walker
Laboratoire des essais environnementaux du Québec
Montréal (Québec)

Peter Wells (membre émérite)
Service de la conservation de l'environnement
Dartmouth (Nouvelle-Écosse)

Gouvernement fédéral,
Pêches et Océans Canada

Robert Roy
Institut Maurice-Lamontagne
Mont-Joli (Québec)

Gouvernement fédéral,
Ressources naturelles Canada

Melissa Desforges
Programme Gestion du risque lié aux écosystèmes
Laboratoire des mines et des sciences minérales,
CANMET
Ottawa (Ontario)

Morgan King
Programme Gestion du risque lié aux écosystèmes
Laboratoire des mines et des sciences minérales, CANMET
Ottawa (Ontario)

Philippa Huntsman-Mapila
Programme Gestion du risque lié aux écosystèmes
Laboratoire des mines et des sciences minérales, CANMET
Ottawa (Ontario)

Carrie Rickwood
Programme Gestion du risque lié aux écosystèmes
Laboratoire des mines et des sciences minérales, CANMET
Ottawa (Ontario)

Gouvernements provinciaux

Richard Chong-Kit
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Etobicoke (Ontario)

Kim Hunter
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Etobicoke (Ontario)

Mary Moody
Saskatchewan Research Council
Saskatoon (Saskatchewan)

David Poirier
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Etobicoke (Ontario)

Julie Schroeder
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Toronto (Ontario)

Trudy Watson-Leung
Ministère de l'Environnement de l'Ontario
Etobicoke (Ontario)

Établissements privés de recherche/autres

Christian Bastien
Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
Ste-Foy (Québec)

Barbara Bayer
ALS Environmental
Winnipeg (Manitoba)

Bozena Glowacka
ALS Environmental
Winnipeg (Manitoba)

Membres du comité consultatif scientifique

Classement des espèces de la région boréale par ordre de priorité

Bob Godwin
Chercheur associé
Écosystèmes et foresterie
Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-8190
Courriel : godwin@src.skc.a

Dick Jiricka, technologue forestier professionnel inscrit
Service des forêts (à la retraite)
Pratiques forestières et reddition de compte
Ministère de l'Environnement de la Saskatchewan
C.P. 3003
Prince Albert SK S6V 6G1

Mark Johnston
Scientifique émérite
Écosystèmes et foresterie
Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-8175
Courriel : johnston@src.skc.a

Michael McLaughlan, forestier professionnel inscrit
Écologiste forestier
Service des forêts
Pratiques forestières et reddition de compte
Ministère de l'Environnement de la Saskatchewan
C.P. 3003
Prince Albert SK S6V 6G1
Téléphone : 306-953-2436
Courriel : Michael.McLaughlan@gov.sk.ca

Jeff Thorpe
Chercheur principal
Écosystèmes et foresterie
Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-8172
Courriel : thorpe@src.skc.a

Essais interlaboratoires

Heather Lemieux
Centre des sciences et technologies environnementales
Laboratoire de toxicologie des sols
Environnement Canada
335, ch. River Sud
Ottawa ON K1A 0H3
Téléphone : 613-949-0177
Télécopieur : 613-949-1347
Courriel : Heather.Lemieux@ec.gc.ca

Darlene Lintott
Exova
7217, ch. Roper N.-O.
Edmonton AB T6B 3J4
Téléphone : 780-438-5525, poste 281
Télécopieur : 780-438-8586
Courriel : Darlene.Lintott@exova.com

Mary Moody
Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-5469
Télécopieur : 306-933-7817
Courriel : moody@src.skc.a

Bryon Shore
HydroQual Laboratories Ltd.
6125, 12e Rue S.-E., Unité 4
Calgary AB T2H 2K1
Téléphone : 403-253-7121
Télécopieur : 403-252-9363
Courriel : Bryon_Shore@golder.com

Gladys L. Stephenson
Stantec
70, ch. Southgate, bureau 1
Guelph ON N1G 4P5
Téléphone : 519-836-6050, poste 219
Télécopieur : 519-836-2493
Courriel : gladys.stephenson@stantec.com

Tam Vo
Maxxam Analytics
4606, route du Canada
Burnaby BC V5G 1K5
Téléphone : 604-639-8420
Télécopieur : 604-731-2386
Courriel : TVo@maxxam.ca

Expertes-conseils

Jennifer Miller
Miller Environmental Sciences Inc.
48, croissant Curtis
King City ON L7B 1C3
Téléphone : 905-833-4221
Télécopieur : 905-833-4200
Courriel : miller.smith@sympatico.ca

Mary Moody
Saskatchewan Research Council
125-15, boul. Innovation
Saskatoon SK S7N 2X8
Téléphone : 306-933-5469
Télécopieur : 306-933-7817
Courriel : moody@src.skc.a

Responsables scientifiques

Juliska Princz
Division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune
Environnement Canada
335, ch. River Sud
Ottawa ON K1A 0H3
Téléphone : 613-990-9544
Télécopieur : 613-949-1347
Courriel : Juliska.Princz@ec.gc.ca

Richard Scroggins
Division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune
Environnement Canada
335, ch. River Sud
Ottawa ON K1A 0H3
Téléphone : 613-990-8569
élécopieur : 613-990-0173
Courriel : Rick.Scroggins@ec.gc.ca

Préparation des graines de bouleau à papier (*Betula papyrifera*) aux fins des essais toxicologiques

Contexte

Pendant la mise au point de la présente méthode, le Saskatchewan Research Council et le Laboratoire de toxicologie des sols d'Environnement Canada ont observé à maintes reprises un faible taux de germination et de levée des graines de bouleau à papier, ce qui les a amenés à entreprendre une étude afin d'améliorer ce taux (SRC, 2012; EC, 2013b). Après avoir examiné diverses procédures, ils ont établi que la flottation dans l'éthanol, suivie d'un tri à la main à l'aide d'un microscope illuminé par le dessous, constituait la méthode la plus efficace pour séparer les débris et les graines vides ou défectives des graines entières saines. Le désailage des graines avant la flottation et le tri au microscope a aussi amélioré le taux de germination. Ces procédures sont décrites ci-dessous et devraient être utilisées pour préparer les graines de bouleau à papier aux fins des essais.

Désailage des graines

Les graines sont déposées sur un morceau d'étamine et frottées délicatement afin que les ailes se détachent des graines (figures E-1 et E-2). Les débris sont ensuite enlevés à la main.

Figure E-1. Désailage des graines de bouleau à l'aide d'un morceau d'étamine (photo : H. Lemieux)

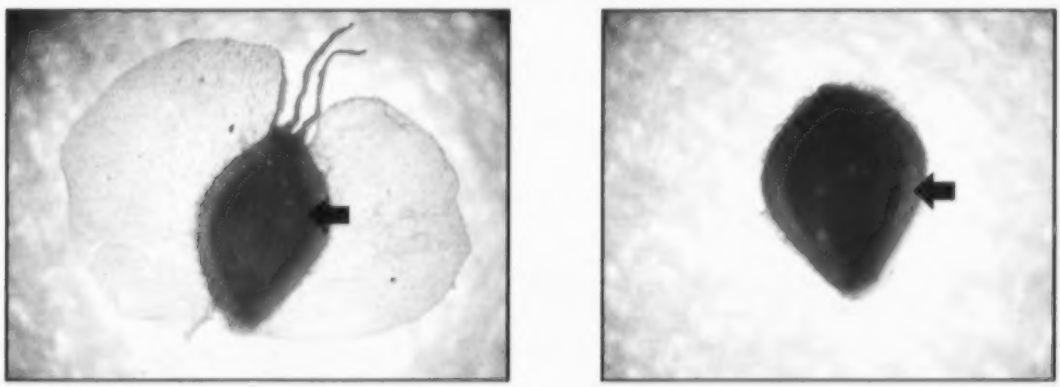


Figure E-2. Graines de bouleau avec et sans ailes, toutes deux fécondes, non stratifiées (grossissement de 25x) (les flèches montrent le pourtour de l'embryon) (photo : M. Moody)

Flottation dans l'éthanol

Une fois désailées, les graines sont séparées par flottation dans l'éthanol. Le dispositif comprend un entonnoir, un tube transparent, deux pinces à vis, une passoire et un bécher (figure E-3). Au départ, la pince à vis du haut est laissée ouverte et celle du bas est fermée; on verse de l'éthanol jusqu'à mi-hauteur de l'entonnoir. Les graines sont ensuite immergées dans l'éthanol, puis remuées afin d'entraîner la séparation des plus denses (entières).

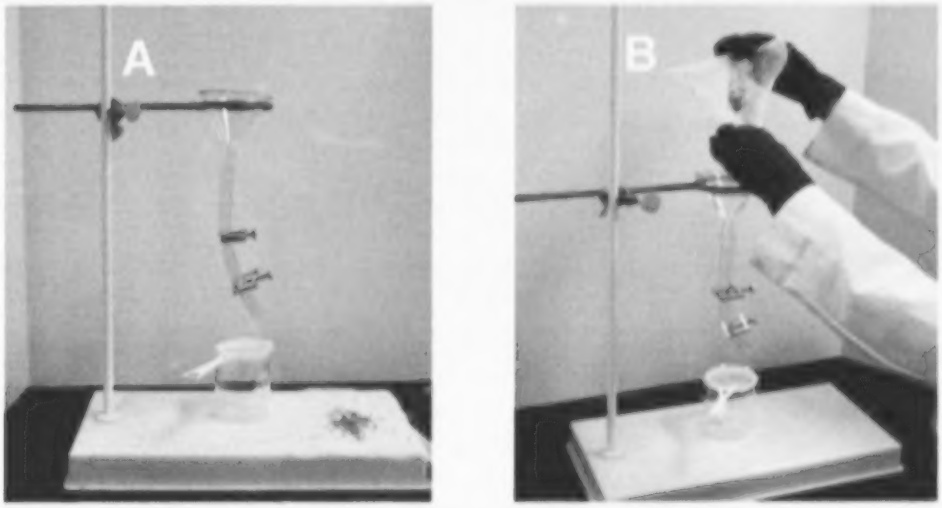


Figure E-3. A – Dispositif de séparation des graines. La pince à vis du haut est laissée ouverte et celle du bas est fermée. B – On verse de l'éthanol dans l'entonnoir, on ajoute les graines et on remue le mélange (photo : H. Lemieux)

On laisse le mélange reposer pendant ~30 s afin que les graines plus denses s'accumulent au-dessus de la pince à vis du bas, puis on ferme la pince du haut. On ouvre ensuite la pince du bas afin que l'éthanol s'écoule dans la passoire, puis on recueille les graines retenues par la passoire (figure E-4).

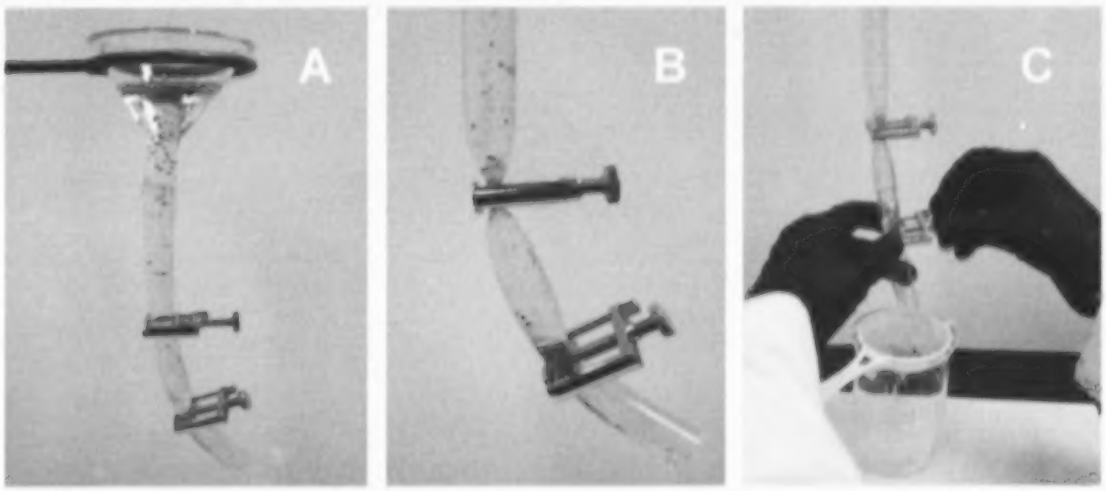


Figure E-4. A – Les graines plus denses commencent à descendre dans le tube. B – La pince à vis du haut est fermée après 30 s. C – La pince du bas est ouverte et les graines plus denses sont recueillies dans la passoire (photo : H. Lemieux)

On rince immédiatement les graines à l'eau désionisée pendant ~30 s, puis on les étale sur un essuie-tout sec (figure E-5). Les graines peuvent maintenant être stratifiées.

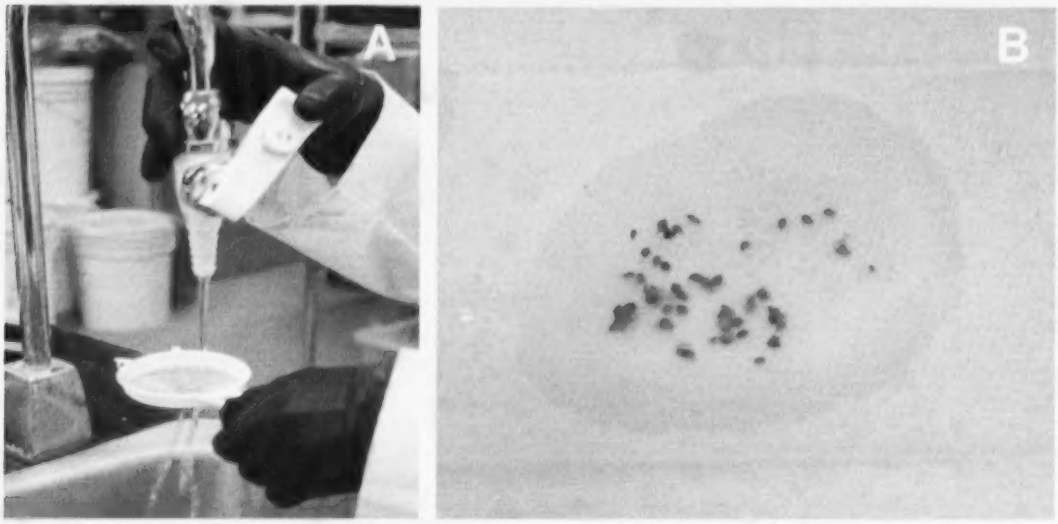


Figure E-5. A – Les graines recueillies dans la passoire sont rincées à l'eau désionisée. B – Après le rinçage, les graines sont mises à sécher sur un essuie-tout (photo : H. Lemieux)

Tri au microscope

Après la période de stratification (v. 2.3), on examine et on trie les graines au microscope (illuminé par le dessous) afin de s'assurer que seules des graines entières saines seront soumises aux essais. On peut ainsi choisir des graines saines et renflées, qui sont plus susceptibles d'être fécondes (figure E-2). Dans une graine féconde, l'embryon remplit le tégument, et la graine semble renflée vue de côté. La figure E-6 illustre une graine féconde, une graine dont la fécondation est douteuse et une graine inféconde. Ces deux derniers types de graines renferment un embryon rabougri et peuvent présenter un profil plus fin ainsi qu'une ligne foncée visible dans le sens de la longueur. On ne devrait pas les employer pour les essais.

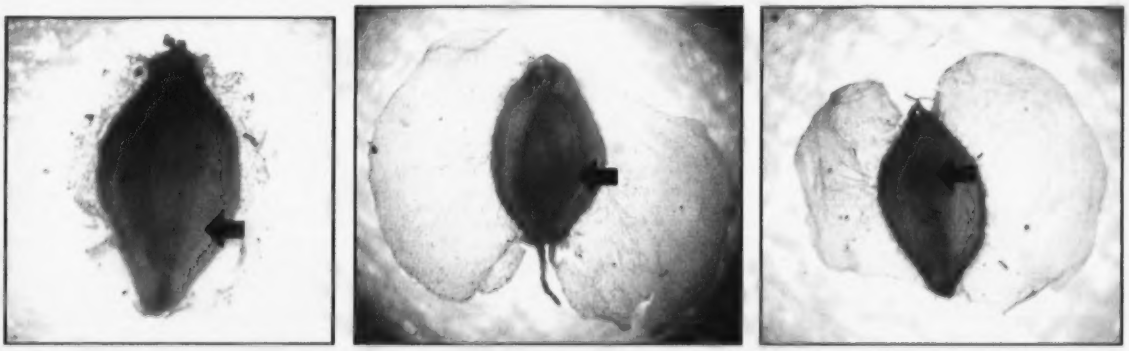


Figure E-6. Tri visuel de graines de bouleau à papier stratifiées : graine féconde (à gauche), graine dont la fécondation est douteuse (au centre) et graine inféconde (à droite) (grossissement de 25x) (les flèches montrent le pourtour de l'embryon) (photo : M. Moody)

Sol artificiel et sols témoins négatifs naturels utilisés pour la mise au point de la méthode et l'établissement des critères de validité des essais

Dans tout essai de toxicité d'un sol, les traitements expérimentaux doivent comprendre un sol témoin négatif. Ce sol doit être essentiellement exempt de tout contaminant susceptible de nuire à la performance des plantes pendant l'essai (v. 3.4). Avant de proposer la méthode d'essai décrite dans le présent document comme méthode normalisée recommandée par Environnement Canada, il a fallu commencer par évaluer la performance d'organismes expérimentaux dans différents types de sols témoins négatifs représentatifs d'un éventail de sols *non contaminés* de la forêt boréale du Canada. Huit types de sols témoins négatifs ont été employés pour mettre au point la méthode d'essai biologique décrite ici et pour évaluer ensuite sa robustesse avec des échantillons de sol dont les caractéristiques physicochimiques étaient très variables. On s'est également servi de ces sols pour établir, d'après la performance des organismes dans le sol témoin, des critères raisonnables de validité des essais. Les sols incluaient un *sol artificiel* (v. 3.4.2) et huit sols et horizons pédologiques naturels (v. 3.4.1) (SRC, 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC, 2010, 2013b). Le *sol artificiel* a été préparé en laboratoire à partir d'ingrédients naturels. Les huit sols naturels de la forêt boréale provenaient de Terre-Neuve (un), du Nouveau-Brunswick (un), de l'Ontario (un), de la Saskatchewan (trois) et de l'Alberta (deux). Les caractéristiques physicochimiques du sol artificiel et des huit sols forestiers (y compris les horizons pédologiques) sont résumées au tableau F-1.

Le sol artificiel employé dans la série d'études sur la performance des organismes expérimentaux en regard de divers types de sols était le même que celui recommandé dans la présente méthode (v. 3.4.2). Il était composé de sable siliceux (70 %), de kaolin (20 %), de tourbe de sphaigne (*Sphagnum* sp.) (10 %) et de carbonate de calcium (10-30 g de $CaCO_3$ par kilogramme de tourbe). Pour préparer le sol, on a combiné soigneusement les ingrédients secs, ajouté graduellement de l'eau désionisée et mélangé de nouveau le tout jusqu'à obtention d'un sol de couleur, de texture et de teneur en humidité visiblement uniformes.

Les huit sols naturels employés comme sols témoins négatifs pour la mise au point de la présente méthode d'essai biologique et l'établissement des critères de validité de l'essai (v. 4.4) ne représentaient pas tous les types de sols canadiens. Cependant, en plus de posséder des caractéristiques physicochimiques très variables, ils comprenaient des sols de la forêt boréale aux textures diversifiées (v. tableau F-1). Ils provenaient de régions qui n'avaient pas fait l'objet d'un épandage direct de pesticides au cours des dernières années. Les échantillons de *sol en vrac* ont été prélevés par horizon dans toute la mesure du possible. La profondeur d'échantillonnage dépendait de la nature du sol et du site lui-même. Après extraction, tous les échantillons de sol ont été séchés à l'air, tamisés (mailles de 4-8 mm), homogénéisés et entreposés à la température ambiante (23 °C) jusqu'à leur emploi.

Le sol provenant de Terre-Neuve (podzol NL) a été classé comme étant un podzol humo-ferrique gleyifié, formé sur un till glaciaire non calcaire pierreux, de loameux à sableux. Les sapins baumiers (*Pinus balsamica*) et des épinettes noires (*Picea mariana*) dispersées dominaient le *couvert forestier* du site. Le sous-étage était formé de kalmias à feuilles étroites (*Kalmia angustifolia*), de gaulthéries hispides (*Gaultheria hispidula*), d'arbres en régénération et de cornouillers du Canada (*Cornus canadensis*); on y trouvait aussi, en moins grands nombres, des dryoptères spinuleuses (*Dryopteris spinulosa*), des osmondes cannelle (*Osmunda cinnamomea*), des maïanthèmes du Canada (*Maianthemum canadense*) et des clintonies boréales (*Clintonia borealis*). La surface du sol était couverte principalement de mousses hypnacées [p. ex., hypne de Schreber (*Pleurozium schreberi*), hypne éclatante (*Hyloconium splendens*), hypne plumeuse (*Ptilium crista-castrensis*)]. Avant l'échantillonnage, on a enlevé les débris ligneux et la couche de feuilles mortes. Les échantillons des horizons organiques sous-jacents F et H ont été prélevés ensemble, puis on a échantillonné séparément les horizons Ahe (à une profondeur de 3 cm), Ae (à une profondeur de 25 cm) et Bf.

Le sol provenant du Nouveau-Brunswick (podzol NB) a été classé comme étant un podzol humo-ferrique gleyifié à drainage imparfait, formé sur un till de fond non calcaire, de texture moyenne à modérément fine (EcoDynamics Consulting Ltd., 2008a). Le couvert forestier principal était constitué d'une forêt mixte incluant des hêtres américains (*Fagus grandifolia*), des érables rouges (*Acer rubrum*), des bouleaux jaunes (*Betula alleghaniensis*)

et des érables à sucre (*Acer saccharum*), avec des sapins baumiers (*Abies balsamea*) dans l'étage sous-dominant; on trouvait dans le sous-étage des noisetiers à bec (*Corylus cornuta*) ainsi que des érables et des sapins baumiers en régénération (EcoDynamics Consulting Ltd., 2008a). La litière forestière (horizon L) a été enlevée; les échantillons des horizons sous-jacents FH et Ahe-Aegj ont été prélevés séparément et transférés dans des seaux de 25 L. L'horizon sous-jacent Bf a aussi été échantillonné; toutefois, étant donné la variation et l'ondulation des limites de l'horizon pédologique, des matières de l'horizon BCgj ont inévitablement été prélevées.

Le sol provenant de l'Ontario (podzol ON) a été classé comme étant un podzol humo-ferrique gleyifié, formé à même un dépôt fluvio-lacustre non calcaire (EcoDynamics Consulting Ltd., 2011). Le site portait une forêt mixte à prédominance de conifères. La strate supérieure du couvert forestier englobait principalement des pins rouges (*Pinus resinosa*) et des pins blancs (*Pinus strobus*) entremêlés d'érables à sucre (*Acer saccharum*) épars; la strate inférieure était composée d'un mélange de bouleaux à papier (*Betula papyrifera*), de thuyas occidentaux (*Thuja occidentalis*), d'épinettes noires (*Picea mariana*), d'épinettes blanches (*Picea glauca*), d'érables rouges (*Acer rubrum*) et de pruches du Canada (*Tsuga canadensis*). Des espèces en régénération prédominaient dans le sous-étage constitué d'aulnes rugueux (*Alnus incana*), de noisetiers à bec (*Corylus cornuta*), de dircas des marais (*Dirca palustris*), de viornes cassinoïdes (*Viburnum cassinoides*), d'airelles fausses-myrtilles (*Vaccinium myrtilloides*) et de linnées boréales (*Linnaea borealis*). Sur la surface du sol, on trouvait surtout des quatre-temps (*Cornus canadensis*) et des coptides du Groenland (*Coptis trifolia*). Trois horizons ont été échantillonnés après l'enlèvement de la litière forestière : Ahe (à une profondeur de 2 cm), AE (à une profondeur de 7 cm) et BF (à une profondeur de 20 cm).

Trois types de sols ont été échantillonnés en Saskatchewan. Le premier (luvisol SK01) a été classé comme étant un luvisol gris foncé modérément à bien drainé, formé sur des matériaux glaciolacustres exempts de roches, de loameux à argileux (EcoDynamics Consulting Ltd., 2007). Le couvert forestier comportait un mélange d'épinettes blanches (*Picea glauca*) et de peupliers faux-trembles (*Populus tremuloides*), un sous-étage constitué de drageons de peupliers, de même que de rosiers (*Rosa* spp.), de saules (*Salix* spp.), de quatre-temps (*Cornus canadensis*) et de linnées boréales (*Linnaea borealis*). Trois horizons ont été échantillonnés : *couches LFH* (à une profondeur de 10 cm), Ahe (à une profondeur de 10 cm) et Bt (à une profondeur de 19 cm).

Le deuxième sol (brunisol SK02) a été classé comme étant un brunisol eutrique orthique à drainage rapide, formé sur des matériaux glaciolacustres sableux exempts de roches (EcoDynamics Consulting Ltd., 2007). Le couvert forestier était composé de peuplements purs de pins gris (*Pinus banksiana*), tandis que des peupliers faux-trembles (*Populus tremuloides*), des aulnes crispés (*Alnus crispa*), des raisins d'ours (*Arctostaphylos uva-ursi*) et des cladonies (*Cladina* spp.) dominaient dans le sous-étage. Après l'enlèvement de la couche de feuilles mortes, les couches FH ont été échantillonnées à une profondeur de ~6 cm; les horizons Ah et Bm ont été échantillonnés ensemble, à une profondeur de 25-30 cm, étant donné que l'horizon Ah était discontinu et mince (2 cm).

Le troisième sol (brunisol SK03), qui était représentatif de l'écozone du bouclier de la taïga et de l'écorégion des hautes-terres du lac Selwyn, a été classé comme étant un brunisol dystrique éluvié (EcoDynamics Consulting Ltd., 2008b). La végétation des hautes-terres était dominée par les épinettes noires (*Picea mariana*) et les pins gris (*Pinus banksiana*), tandis que le sous-étage comptait des cladonies (*Cladina mitis* surtout) et des mousses hypnacées (*Pleurozium schreberi* surtout), des thés du Labrador (*Ledum groenlandicum*), des airelles vigne d'Ida (*Vaccinium vitis-idaea*), des airelles fausses-myrtilles (*Vaccinium myrtilloides*), des airelles des marécages (*Vaccinium uliginosum*) et des camarines noires (*Empetrum nigrum*). Les débris ligneux de surface et la couche de feuilles mortes ont été enlevés afin d'exposer les horizons F et H; les échantillons extraits de ces horizons ont été transférés dans des seaux de 25 L. Ensuite, les horizons minéraux sous-jacents A (Ae) et B (Bfj et Bm) ont été échantillonnés ensemble, étant donné que leur épaisseur combinée était de ~10 cm.

Deux types de sol ont été échantillonnés en Alberta. Le premier (gleysol AB01) a été prélevé dans une tourbière. Il s'agissait d'un gleysol humique régosolique (phase tourbeuse) à drainage pauvre, dont la texture variait du loam au loam argileux près de la surface, et qui devenait riche en argile avec la profondeur (EcoDynamics Consulting Ltd., 2007). L'épinette noire (*Picea mariana*) constituait l'espèce dominante, tandis que les mousses *Sphagnum* spp. et *Polytrichum* spp. dominaient le sous-étage. Deux horizons ont été échantillonnés : un mélange des horizons Of/Oh et l'horizon Ahg (à une profondeur de 17 cm).

Le deuxième sol (chernozem AB02) a été échantillonné sur une terrasse fluviatile. Il a été classé comme étant un chernozem gris foncé régosolique modérément à bien drainé (EcoDynamics Consulting Ltd., 2007). La texture de l'horizon Ah, riche en matière organique, a été classée comme étant un loam limoneux qui, avec la profondeur, passait d'un sable très fin/sable loameux très fin à un loam très sableux. L'espèce végétale dominante était le brome inerme (*Bromus inermis* Leyss.), avec des rosiers (*Rosa* spp.), des gaillets boréaux (*Galium boreale* L.) et des épilobes à feuilles étroites (*Chamerion angustifolium* L.) épars et peu nombreux. Dans les zones forestières près des pentes de la vallée fluviale, des trembles (*Populus* spp.) constituaient l'étage supérieur, et on y trouvait des épinettes blanches (*Picea glauca*) dispersées. Deux horizons ont été échantillonnés : Ah, à une profondeur de 11 cm, et Ckgj, à une profondeur de ~25-30 cm. Il n'y avait aucun horizon B défini.

Tableau F-1. Caractéristiques physicochimiques du sol artificiel et des sols et horizons pédologiques naturels de la forêt boréale envisagés comme sols témoins négatifs[a]

		Type de sol :	**Sol artificiel**	**Podzol TN**			
		Source :	Préparé en laboratoire	Terre-Neuve			
		Classification :	s.o.[c]	Podzol humo-ferrique gleyifié			
		Horizon :	s.o.	FH	Ahe	Ae	Bf
Paramètre	**Unité de mesure**	**Méthode d'analyse**					
Texture du sol[b]		s.o.[c]	LS	-	-	-	-
Sable	%	Composition granulométrique (bougie filtrante)	76	-	-	-	-
Limon	%		12	-	-	-	-
Argile	%		12	-	-	-	-
Capacité de rétention d'eau	%	EC (2005a)	79,0	275,0	108,5	48,2	41,9
Teneur optimale en humidité	%		62,5	92,5	70,0	50,0	55,0
pH	Unités	Méthode du ratio sol-eau de 1:1	7,4	3,9	3,6	3,7	4,2
Conductivité	mS/cm	Méthode de la pâte saturée	n.d.[d]	-	-	-	-
Carbone organique	%	Méthode du four Leco	5,5	-	-	-	-
Matière organique	%	Perte au feu	4,6	82,6	26,7	2,9	4,6
Capacité d'échange cationique	$Cmol^+/kg$	Méthode du chlorure de baryum	11	32	33	21	
Azote total	%	Méthode de Kjeldahl	0,07	-	-	-	-
NH_3	mg/kg	Extraction au KCl 2N	3	-	-	-	-
NO_3-N	mg/kg		5	-	-	-	-
NO_2-N	mg/kg		<1	-	-	-	-
Phosphore (total)	%		0,03	-	-	-	-
Phosphore	mg/kg	Extraction au $NaHCO_3$	9	20	17	8	4
Potassium	mg/kg	Extraction à l'acétate d'ammonium, analyse colorimétrique	11	160	90	20	20
Magnésium	mg/kg		77	110	90	20	20
Calcium	mg/kg		2000	400	300	100	<100
Sodium	mg/kg		44	20	20	10	10
Ratio C/N			34	-	-	-	-
Rapport d'adsorption du sodium		Méthode de la pâte saturée	0,3	-	-	-	-

		Type de sol :	Podzol NB		Podzol ON		
		Source :	Nouveau-Brunswick		Ontario		
		Classification :	Podzol humo-ferrique gleyifié		Podzol humo-ferrique gleyifié		
		Horizon :	A	B	A	Ae	B
Paramètre	**Unité de mesure**	**Méthode d'analyse**					
Texture du sol[b]		s.o.[c]	LSA	LS	SL	SL	SL
Sable	%	Composition granulométrique (bougie filtrante)	79	62	82	88	86
Limon	%		1	28	12	6	6
Argile	%		20	10	6	6	8
Capacité de rétention d'eau	%	EC (2005a)	67,6	80,6	41,0	181,9	40,9
Teneur optimale en humidité	%		65,0	65,0	65,0	52,5	47,5
pH	Unités	Méthode du ratio sol-eau de 1:1	4,7	4,6	4,6	4,6	5,8
Conductivité	mS/cm	Méthode de la pâte saturée	0,23	0,06	-	-	-
Carbone organique	%	Méthode du four Leco	41,1	3,7	32,1	1,6	1,0
Matière organique	%	Perte au feu	77,1	10,9	58,1	2,1	2,2
Capacité d'échange cationique	$Cmol^+/kg$	Méthode du chlorure de baryum			26	9	12
Azote total	%	Méthode de Kjeldahl	1,72	0,23	0,96	0,06	0,05
NH_3	mg/kg	Extraction au KCl 2N	783	19	128	4	2
NO_3-N	mg/kg		3	9	<1	<1	<1
NO_2-N	mg/kg		-	-	<1	<1	<1
Phosphore (total)	%		-	-	-	-	-
Phosphore	mg/kg	Extraction au $NaHCO_3$	99	18	16	2	<2
Potassium	mg/kg	Extraction à l'acétate d'ammonium, analyse colorimétrique	917	1030	143	23	16
Magnésium	mg/kg		784	6560	151	31	40
Calcium	mg/kg		4190	608	765	184	191
Sodium	mg/kg		128	<100	57	35	21
Ratio C/N			23,9	16	33,4	26	20,6
Rapport d'adsorption du sodium		Méthode de la pâte saturée	1,8	1,2	2,0	2,8	2,4

		Type de sol :	Luvisol SK01			Brunisol SK02		Brunisol SK03	
		Source :	Saskatchewan			Saskatchewan		Saskatchewan	
		Classification :	Luvisol gris foncé			Brunisol eutrique orthique		Brunisol dystrique éluvié	
		Horizon :	LFH	Ahe	Bt	FH	AB	FH	AeB
Paramètre	**Unité de mesure**	**Méthode d'analyse**							
Texture du sol[b]		s.o.[c]	LES	L	L	LS	SL	-	-
Sable	%	Composition granulométrique (bougie filtrante)	68	37	35	89	82	-	-
Limon	%		22	53	55	7	12	-	-
Argile	%		10	10	10	6	4	-	-
Capacité de rétention d'eau	%	EC (2005a)	287,7	68,6	42,1	174,1	39,5	70,0	41,7
Teneur optimale en humidité	%		55,0	52,5	42,5	55,0	45,0	63,5	55,0
pH	Unités	Méthode du ratio sol-eau de 1:1	6,6	6,4	6,6	6,9	6,8	4,5	5,6
Conductivité	mS/cm	Méthode de la pâte saturée	-	-	-	-	-	-	-
Carbone organique	%	Méthode du four Leco	29,4	4,9	1,0	11,4	1,0	-	-
Matière organique	%	Perte au feu	46,7	9,5	2,0	15,8	1,8	8,2	2,5
Capacité d'échange cationique	$Cmol^+/kg$	Méthode du chlorure de baryum	43	22	11	22	6	19	7
Azote total	%	Méthode de Kjeldahl	1,6	0,41	0,07	0,65	0,05	-	-
NH_3	mg/kg	Extraction au KCl 2N	158	49	5	23	6	-	-
NO_3-N	mg/kg		15	7	3	86	<1	-	-
NO_2-N	mg/kg		<1	<1	<1	<1	<1	-	-
Phosphore (total)	%		0,18	0,14	0,06	0,05	0,02	-	-
Phosphore	mg/kg	Extraction au $NaHCO_3$	56	62	9	24	16	17	5
Potassium	mg/kg	Extraction à l'acétate d'ammonium, analyse colorimétrique	411	363	170	200	83	70	20
Magnésium	mg/kg		586	315	198	785	196	20	10
Calcium	mg/kg		7260	3540	1780	2860	795	<100	<100
Sodium	mg/kg		93	100	67	64	50	30	20
Ratio C/N			20,5	0,8	0,3	4	0,6	-	-
Rapport d'adsorption du sodium		Méthode de la pâte saturée	0,0	0,1	0,2	0,4	0,1	-	-

		Type de sol :	Gleysol AB01		Chernozem AB02	
		Source :	Alberta		Alberta	
		Classification :	Gleysol humique régosolique		Chernozem gris foncé régosolique	
		Horizon :	Of/Oh	Ahg	Ah	Ck
Paramètre	**Unité de mesure**	**Méthode d'analyse**				
Texture du sol[b]		s.o.[c]	Tourbe	LS	LS	LS
Sable	%	Composition granulométrique (bougie filtrante)	s.o.	59	51	71
Limon	%		s.o.	33	43	24
Argile	%		s.o.	8	6	6
Capacité de rétention d'eau	%	EC (2005a)	248,1	73,9	68,3	51,4
Teneur optimale en humidité	%		100,0	70,0	55,0	47,5
pH	Unités	Méthode du ratio sol-eau de 1:1	3,9	4,3	7,1	7,7
Conductivité	mS/cm	Méthode de la pâte saturée	0,38	0,1	0,34	0,2
Carbone organique	%	Méthode du four Leco	34,6	11,3	6,3	1,5
Matière organique	%	Perte au feu	67,8	21,5	9,5	2,6
Capacité d'échange cationique	$Cmol^+/kg$	Méthode du chlorure de baryum	27	39	25	16
Azote total	%	Méthode de Kjeldahl	2	0,63	0,43	0,09
NH_3	mg/kg	Extraction au KCl 2N	114	9	2	1
NO_3-N	mg/kg		3	9	15	1
NO_2-N	mg/kg		<1	<1	<1	<1
Phosphore (total)	%		-	-	-	-
Phosphore	mg/kg	Extraction au $NaHCO_3$	28	33	17	8
Potassium	mg/kg	Extraction à l'acétate d'ammonium, analyse colorimétrique	53	81	430	203
Magnésium	mg/kg		66	108	431	235
Calcium	mg/kg		462	570	3380	2400
Sodium	mg/kg		57	28	-	12
Ratio C/N			17,3	-	14,6	16,2
Rapport d'adsorption du sodium		Méthode de la pâte saturée	0,9	1,3	1,2	1,2

[a] Caractéristiques du sol artificiel et des divers sols témoins négatifs qui ont été employés pour mettre au point la méthode d'essai biologique définitive décrite dans le présent document et pour établir les critères connexes de validité des essais (SRC 2004, 2006, 2007, 2008, 2009; EC et SRC, 2007; EC, 2010, 2013b).
[b] LS = loam sableux; SL = sable loameux; LSA = loam sablo-argileux; L = loam.
[c] Sans objet.
[d] Non déterminé.

Séries logarithmiques de concentrations convenant aux essais toxicologiques[a]

Colonne (nombre de concentrations entre 10,0 et 1,00 ou entre 1,00 et 0,10)[b]

1	2	3	4	5	6	7
10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
3,2	4,6	5,6	6,3	6,8	7,2	7,5
1,00	2,2	3,2	4,0	4,6	5,2	5,6
0,32	1,00	1,8	2,5	3,2	3,7	4,2
0,10	0,46	1,00	1,6	2,2	2,7	3,2
	0,22	0,56	1,00	1,5	1,9	2,4
	0,10	0,32	0,63	1,00	1,4	1,8
		0,18	0,40	0,68	1,00	1,3
		0,10	0,25	0,46	0,72	1,00
			0,16	0,32	0,52	0,75
			0,10	0,22	0,37	0,56
				0,15	0,27	0,42
				0,10	0,19	0,32
					0,14	0,24
					0,10	0,18
						0,13
						0,10

[a] Modifié d'après Rocchini et coll. (1982).

[b] Dans une colonne, on peut choisir une série de concentrations successives. Les points médians entre les concentrations de la colonne (x) se trouvent dans la colonne (2x + 1). Les valeurs énumérées peuvent représenter des concentrations exprimées sous forme de pourcentage massique (p. ex., mg/kg) ou volumique (p. ex., mg/L). Au besoin, on peut les multiplier ou les diviser par n'importe quelle puissance de 10. La colonne n° 2, avec ses deux ordres de grandeur, pourrait être utilisée si le degré de toxicité est entaché de beaucoup d'incertitude. Il n'est pas recommandé d'utiliser des concentrations plus largement espacées, car elles ne permettraient pas de définir avec précision les limites de confiance entourant toute valeur à effet de seuil calculée. Pour les essais sur un effluent, on gagne rarement en précision en choisissant des concentrations dans les colonnes à droite des colonnes 3 ou 4; les valeurs plus rapprochées des colonnes 4 à 7 peuvent parfois être utiles pour les essais sur des substances chimiques dont l'effet de seuil est abrupt.

www.ec.gc.ca

Pour des renseignements supplémentaires :

Environnement Canada
Informathèque
10, rue Wellington, 23e étage
Gatineau (Québec) K1A 0H3
Téléphone : 1-800-668-6767 (au Canada seulement) ou 819-997-2800
Télécopieur : 819-994-1412
ATS : 819-994-0736
Courriel : enviroinfo@ec.gc.ca